

# **Dissertation**

## **Die dynamische Gefäßanalyse am Augenhintergrund (DVA)**

### **Eine neue Methode zur Ermittlung der endothelialen Dysfunktion bei chronischer Herzinsuffizienz**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät**

**der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Helen Schmicker-Helf

geboren am 12.11.1980 in Magdeburg

Gutachter:

1. PD Dr. med. Christian Jung, Jena
2. PD Dr. med. Martin Busch, Jena
3. Prof. Dr. med. Marcus Blum, Erfurt

Tag der öffentlichen Verteidigung: 01.04.2014

## Abkürzungsverzeichnis

ACC	American College of Cardiology
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ADMA	Asymmetrisches N <sup>G</sup> , N <sup>G</sup> -Dimethyl-L-Arginin
ADP	Adenosindiphosphat
AHA	American Heart Association
ANP	Atriales Natriuretisches Peptid
AT1	Angiotensin-II-Typ-1-Rezeptor
AUC	area under the curve
AVR	Arterio-Venöser Verhältniswert bzw. A/V-Ratio
BGA	Blutgasanalyse
BMI	Body-Mass-Index
BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit bzw. Erythrozytensedimentationsrate
CCD	Charge-Coupled Device
cGMP	zyklisches Guanosinmonophosphat
CHF	Chronische Herzinsuffizienz
CI	Konfidenzintervall
cm	Zentimeter
CRAE	Arteriellcs Zentraläquivalent der Retina
CRVE	Venöses Zentraläquivalent der Retina
CRP	C-reaktives Protein

CRT	Kardiale Resynchronisationstherapie
CV	Variationskoeffizient
Db <sub>a</sub>	Baselinedurchmesser der Arterie
Db <sub>v</sub>	Baselinedurchmesser der Vene
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
DDAH	Methylarginindimethylaminohydrolase
dpt	Dioptrien
DVA	Dynamic Vessel Analyzer
EDRF	Endothelium Derived Relaxing Factor
EDTA	Äthylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
ELAM-1	Endothelial Leukocyte Adhesion Molecule 1 (endotheliales Leukozytenadhäsionsmolekül)
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
eNOS	endotheliale Form der NO-Synthase
FD <sub>a</sub>	Flickerdilatation der Arterie
FD <sub>v</sub>	Flickerdilatation der Vene
FMD	Flow Mediated Dilation bzw. Flussvermittelte Vasodilatation
°C	Grad Celsius
Gpt/l	Gigapartikel pro Liter
GTP	Guanosintriphosphat
HDL	High-Density-Lipoprotein

HFNEF	Herzinsuffizienz mit normaler Ejektionsfraktion
HL	Hodges-Lehmann-Hochrechner
Hz	Hertz
IABP	Intraaortale Ballonpumpe
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1 (interzelluläres Oberflächenadhäsionsmolekül)
ICD	Implantierbarer Cardioverter-Defibrillator
iNOS	induzierbare Form der NO-Synthase
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low-Density-Lipoprotein
LOX	Rezeptor für oxidiertes LDL
LVAD	Left Ventricular Assist Devices
MDC	minimal zu detektierende Konzentration
mg/dl	Milligramm pro Deziliter
mg/l	Milligramm pro Liter
MHz	MegaHertz
ml	Milliliter
MMA	N <sup>G</sup> -Monomethyl-L-Arginin
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol/l	Millimol pro Liter
MRT	Magnetresonanztomogramm

µm	Mikrometer
µmol/l	Mikromol pro Liter
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxidsynthase
nNOS	neuronale Form der NO-Synthase
NT-pro-BNP	N-terminale pro brain derived natriuretic peptide
NYHA	New York Heart Association
oGTT	Orales Glucosetoleranztest
O <sub>2</sub> -	Superoxidradikale
PAF	Plättchen-aktivierender Faktor
PAI-I	Plasminogen Aktivator Inhibitor
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PTCA	Perkutane Transluminale Koronarangioplastie
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
ROC	Receiver Operating Characteristic
ROS	radical oxygen species (Sauerstoffradikale)
RVA	Retinal Vessel Analyzer
RU	relative Einheit
r	Spearman-Rang-Korrelationskoeffizient
s	Sekunden
SDMA	Symmetrisches N <sup>G</sup> , N <sup>G</sup> -Dimethyl-L-Arginin

sGC	lösliche Guanylatcyclase
SVHS	Super Video Home System
TSH	Thyroidea-stimulierendes Hormon
t-PA	Plasminogen Aktivator
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule 1 (vaskuläres Oberflächenadhäsionsmolekül)

# Inhaltsverzeichnis

Kapitel	Seite
<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	
<b>Inhaltsverzeichnis</b>	
<b>I. Zusammenfassung</b>	<b>1</b>
<b>II. Einleitung</b>	<b>3</b>
1. Definition der Herzinsuffizienz	3
2. Einteilung und Ätiologie der Herzinsuffizienz	3
3. Epidemiologie der Herzinsuffizienz	5
4. Pathophysiologie der Herzinsuffizienz	6
5. Diagnostik der Herzinsuffizienz	7
6. Biomarker bei Herzinsuffizienz	9
7. Therapie der Herzinsuffizienz	11
8. Die dilatative Kardiomyopathie (DCM)	12
9. Das Endothel und die Bildung von Stickstoffmonoxid (NO)	13
10. Die endotheliale Dysfunktion	16
11. Flow Mediated Dilation (FMD)	18
12. Die statische und dynamische Gefäßanalyse mittels Dynamic Vessel Analyzer (DVA)	20
<b>III. Ziele der Arbeit</b>	<b>27</b>



<b>IV.</b>	<b>Methodik</b>	<b>28</b>
	1. Studienarme und Studiendesign	28
	2. Ein- und Ausschlusskriterien	29
	2.1. Gesunde Probanden	
	2.2. Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie	
	3. Gefäßanalyse mittels Dynamic Vessel Analyzer	33
	4. Untersuchungsablauf	35
	5. Messung von asymmetrischem N <sup>G</sup> ,N <sup>G</sup> -Dimethyl-L-Arginin (ADMA)	39
	6. Die Statistische Analyse	40
<b>V.</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>41</b>
	1. Grundcharakteristik der Studienteilnehmer	41
	2. Auswertung der statischen Gefäßanalyse bei den gesunden Probanden und bei den Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie (DCM)	43
	3. Auswertung der Ergebnisse der dynamischen Gefäßanalyse (DVA)	43
	3.1. Auswertung der DVA-Ergebnisse bei den gesunden Probanden	
	3.2. Auswertung der DVA-Ergebnisse bei den DCM-Patienten	
	4. Vergleich der DVA-Ergebnisse zwischen den gesunden Probanden und den DCM-Patienten	46
	5. Auswertung der ADMA-Messungen der gesunden Probanden und der DCM-Patienten	50
	6. Korrelation der DVA-Ergebnisse mit den Ergebnissen der ADMA-Messungen	51

	7. Korrelation zwischen Alter und der relativen Veränderung des Arteriendurchmessers in jeder Gruppe	52
	8. Korrelation zwischen Alter und ADMA in jeder Gruppe	53
	9. Diagnostische Sicherheit der prozentualen Veränderung des Arteriendurchmessers	54
<b>VI.</b>	<b>Diskussion</b>	<b>57</b>
<b>VII.</b>	<b>Schlussfolgerungen</b>	<b>64</b>
<b>VIII.</b>	<b>Literatur- und Quellenverzeichnis</b>	<b>66</b>
<b>IX.</b>	<b>Anhang</b>	<b>79</b>
	1. Lebenslauf	79
	2. Danksagung	81
	3. Ehrenwörtliche Erklärung	82
	4. Musterbogen      Patienteninformation      und Einverständniserklärung	83
	5. DVA-Anamnesebogen	87
	6. Votum der Ethik-Kommission Jena	89

# **I. Zusammenfassung**

## **Die dynamische Gefäßanalyse am Augenhintergrund (DVA)**

### **Eine neue Methode zur Ermittlung der endothelialen Dysfunktion bei chronischer Herzinsuffizienz**

#### **Wissenschaftlicher Hintergrund**

Die chronische Herzinsuffizienz ist eine der führenden Ursachen für Krankenhauseinweisungen und Todesfälle in den Industrieländern. Sie ist häufig assoziiert mit humoralen und metabolischen Störungen, einschließlich einer reduzierten Bioverfügbarkeit des wichtigen Signalmoleküls Stickstoffmonoxid, das gefäßerweiternde Eigenschaften hat. Mehrere Studien berichteten über hohe Serum-Spiegel von asymmetrischen  $N^G$ ,  $N^G$ -Dimethyl-L-Arginin (ADMA) bei der chronischen Herzinsuffizienz, einem endogenen Inhibitor der NO-Produktion, der zur endothelialen Dysfunktion beiträgt. Die retinale Gefäßanalyse mittels Dynamic Vessel Analyzer (DVA) erlaubt dynamische Analysen der Netzhautgefäße. Stickstoffmonoxid (NO) ist ein Mediator der retinalen Vasodilatator-Antwort auf Flickerlicht. Die Messung der Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht wurde als eine attraktive Technik zur nichtinvasiven Einschätzung der endothelialen Dysfunktion bei der arteriellen Hypertonie und beim Diabetes mellitus beschrieben.

#### **Fragestellung und Ziele**

Die Hypothese lautete, dass die retinale Gefäßantwort auf Flickerlicht bei Patienten mit einer dilatativen Kardiomyopathie (DCM), einer möglichen Genese der chronischen Herzinsuffizienz, reduziert ist und invers mit den Serum-ADMA-Spiegeln, entsprechend der endothelialen Dysfunktion, korreliert.

## **Methodik**

16 Patienten mit einer dilatativen Kardiomyopathie und 22 gesunde Teilnehmer wurden in die Studie eingeschlossen. Es erfolgte die Messung der Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht als prozentuale Änderung über der Grundlinie und der Serum-ADMA-Spiegel.

## **Ergebnisse und Diskussion**

Die Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht war bei den Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe signifikant reduziert (im Mittel 0,60 vs. 4,60 %; p-Wert < 0,001). Die ADMA-Spiegel waren bei den DCM-Patienten tendenziell etwas höher als bei der gesunden Kontrollgruppe (im Mittel 0,66 vs. 0,62  $\mu\text{mol/l}$ ; p-Wert = 0,099). Es zeigte sich eine hochsignifikant inverse Korrelation zwischen der Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht und den Serum-ADMA-Spiegeln ( $r = -0,531$ , p-Wert = 0,001). Mittels ROC-Kurven-Analyse konnte gezeigt werden, dass sich die Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie und die gesunden Probanden bei einem Trennwert von 1,7% Dilatation des Arterien durchmessers sehr gut voneinander separieren lassen.

## **Schlussfolgerungen**

Die Befunde zeigen, dass die retinale Gefäßanalyse eine attraktive nichtinvasive Methode ist, um die endotheliale Dysfunktion bei der dilatativen Kardiomyopathie zu quantifizieren.

## **Schlüsselwörter**

DVA, retinale Gefäßanalyse, chronische Herzinsuffizienz, endotheliale Dysfunktion, ADMA

## **II. Einleitung**

### **II.1. Definition der Herzinsuffizienz**

Die Herzinsuffizienz ist definiert als die Unfähigkeit des Herzens, das vom Organismus benötigte Herzzeitvolumen zu fördern (Hunt et al. 2009). Das Herz kann den Organismus somit nicht mehr ausreichend mit Blut und damit mit genügend Sauerstoff versorgen, um in Ruhe oder unter Belastung den Stoffwechsel aufrecht zu erhalten.

Klinisch liegt dann eine Herzinsuffizienz vor, wenn typische Symptome wie Luftnot und Erschöpfung in der Anamnese und objektive Zeichen wie Ödeme und Rasselgeräusche in der klinischen Untersuchung bestehen (Hunt et al. 2009).

### **II.2. Einteilung und Ätiologie der Herzinsuffizienz**

Sie kann nach dem zeitlichen Verlauf in eine akute und eine chronische Herzinsuffizienz, nach dem betroffenen Ventrikel in eine Links-, Rechts- und Globalherzinsuffizienz und nach dem Herzzeitvolumen in einen Low-output-failure (Vorwärtsversagen mit vermindertem Herzzeitvolumen) und einen High-output-failure (mangelhafte Sauerstoffversorgung der Peripherie bei erhöhtem Herzzeitvolumen) unterteilt werden. Es werden weiterhin systolische und diastolische Ventrikelfunktionsstörungen unterschieden. Die systolische Herzinsuffizienz wird hervorgerufen durch eine Kontraktionsschwäche bzw. eine erhöhte Ventrikelwandspannung bei Volumen- oder Druckbelastung des Ventrikels auf dem Boden einer koronarer Herzkrankheit, von Kardiomyopathien, einer Myokarditis, von Klappenvitien und einer arteriellen Hypertonie und geht mit einer reduzierten Ejektionsfraktion einher.

Die Herzinsuffizienz mit normaler Ejektionsfraktion (HFNEF) entsteht durch eine Herzhypertrophie bzw. durch eine behinderte Ventrikelfüllung bei verminderter diastolischer Dehnbarkeit und Relaxation des linken Ventrikels bei arterieller Hypertonie, konstriktiver Perikarditis, restriktiver Kardiomyopathie und Herzbeuteltamponade und geht mit einer normalen systolischen Ejektionsfraktion einher. Die Herzinsuffizienz kann auch durch Herzrhythmusstörungen ausgelöst werden.

Symptomatisch graduiert man die Herzinsuffizienz nach der Einschränkung der Belastbarkeit und teilt sie nach der New York Heart Association (NYHA) ein in die Stadien: NYHA-Stadium I (Beschwerdefreiheit, normale körperliche Belastbarkeit), NYHA-Stadium II bzw. III (Beschwerden bei stärkerer bzw. leichter körperlicher Belastung) und NYHA-Stadium IV (Ruhebeschwerden) (Hoppe und Erdmann 2001). Nach den ACC/AHA-Leitlinien (American College of Cardiology/American Heart Association) kann die Herzinsuffizienz nach Pathologie und Progression der Erkrankung in die Stadien A (Patienten mit hohem Risiko für Herzinsuffizienz ohne klinisch nachweisbare strukturelle Herzerkrankung und ohne Herzinsuffizienzsymptome), B (Patienten mit nachweisbarer struktureller Herzerkrankung ohne Herzinsuffizienzsymptome), C (Patienten mit aktuellen oder zurückliegenden Herzinsuffizienzsymptomen auf dem Boden einer strukturellen Herzerkrankung) und D (Patienten mit fortgeschrittener struktureller Herzerkrankung und ausgeprägten Herzinsuffizienzsymptomen trotz maximaler medikamentöser Therapie, welche spezielle Interventionen benötigen) unterteilt werden (Hunt et al. 2001).

### **II.3. Epidemiologie der Herzinsuffizienz**

Die chronische Herzinsuffizienz ist eine der führenden Ursachen für Todesfälle in den Industrieländern und kann sich als Endstadium eines strukturellen und funktionellen kardialen Umbauprozesses entwickeln, der die Fähigkeit des Ventrikels, Blut einzutreiben und auszuwerfen, beeinträchtigt (Hunt et al. 2009, Davis et al. 2000, Mosterd et al. 1999).

Die Herzinsuffizienz ist aktuell der führende Grund für Krankenhauseinweisungen weltweit und eine der häufigsten und kostenintensivsten chronischen Erkrankungen (Hunt et al. 2009, Neumann et al. 2009, McMurray und Stewart 2000, Zugck et al. 2010), was bedingt ist durch eine hohe Krankenhauswiederaufnahmerate aufgrund zum Beispiel rezidivierender kardialer Dekompensationen. Mit steigender Lebenserwartung nach Berechnungen des statistischen Bundesamtes von derzeit 4 Millionen 80-Jährigen auf ca. 10 Millionen im Jahr 2050 wird auch die Zahl der an Herzinsuffizienz erkrankten Bevölkerung von derzeit 141000 Patienten auf ca. 353000 im Jahr 2050 ansteigen (Neumann et al. 2009) .

Sie ist verantwortlich für 1 bis 2 Prozent der direkten Gesundheitskosten in den westlichen Industrienationen und für ca. 1,1 Prozent der direkten Gesundheitskosten in Deutschland (Neumann et al. 2009). Die Prävalenz der Herzinsuffizienz steigt mit dem Alter an und wird zu einem zentralen und eskalierenden öffentlichen Gesundheitsproblem in der alternden Bevölkerung (Hunt et al. 2009, Davis et al. 2000, Mosterd et al. 1999, Neumann et al. 2009, McMurray und Stewart 2000, Zugck et al. 2010).

Die Ätiologie der Herzinsuffizienz in klinischen Studien und Registern schließt ischämische und nichtischämische Ursachen ein. Die koronare Herzkrankheit, Bluthochdruck und die dilatative Kardiomyopathie sind die häufigsten Ursachen für Herzinsuffizienz in der westlichen Welt (Hunt et al. 2009, McMurray und Stewart 2000). Circa 30 Prozent der Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie könnten eine genetische Ursache haben (Hunt et al. 2009, Francis und Pierpont 1988).

## **II.4. Pathophysiologie der Herzinsuffizienz**

Das volle Verständnis der Pathophysiologie der chronischen Herzinsuffizienz ist wichtig und soll kurz erläutert werden. Kaskaden von Kompensationsmechanismen werden aktiviert, um die kardiale Auswurfleistung, den systemischen Blutdruck und die Perfusion der vitalen Organe aufrecht zu erhalten. Am wichtigsten sind der Frank-Starling-Mechanismus, die ventrikuläre Hypertrophie mit oder ohne Ventrikelerweiterung und die Aktivierung neurohormonaler Systeme wie zum Beispiel des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS), von Noradrenalin, des sympathischen Nervensystems und von Endothelin und Vasopressin. Die chronisch anhaltende neurohormonale Aktivierung verursacht eine Vasokonstriktion sowie eine Wasser- und Natriumretention. Obwohl diese Mechanismen initial die hämodynamische Situation bei akuter Herzinsuffizienz stabilisieren können, führt die prolongierte Aktivierung des endogenen neurohormonalen Systems zur ansteigenden Nachlast. Zusätzlich wird die Struktur und die Funktion des Herzens beeinflusst, es wird die myokardiale Fibrosierung stimuliert und dies könnte direkt Effekte auf die kardialen Zellen im Sinne einer Apoptose ausüben. Somit trägt dieser prolongierte Prozess der neurohormonalen Aktivierung zum pathologischen kardialen Remodelling und somit zur Progression der Herzschwäche bei (Hunt et al. 2009, Mendes-Ribeiro et al. 2009).

Während neurohormonale systemische Faktoren intensiv untersucht wurden, sind lokale Faktoren, die den peripheren Gefäßtonus und die Gewebepерfusion bei chronischer Herzinsuffizienz regulieren, bisher kaum beleuchtet worden (Mendes-Ribeiro et al. 2009).



## **II.5. Diagnostik der Herzinsuffizienz**

Die klinische Diagnostik umfasst:

1. Anamnese
2. Körperliche Untersuchung
3. Nichtapparative Diagnostik
4. Apparative Diagnostik

Bei klinischem Verdacht auf eine Herzinsuffizienz sollte zunächst eine ausführliche Anamnese erfolgen (Erfragen von NYHA-Stadium und Dauer der Luftnotsymptomatik, Gewichtszunahme, Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit, Bauchumfangszunahme, Wasseransammlung in Beinen/Armen, andere Symptome wie zum Beispiel Brustschmerzen, Herzrasen, Schwindel oder Synkopen, kardiovaskuläre Risikofaktoren, Medikamenteneinnahme, frühere kardiale Ereignisse, Familienanamnese).

Die körperliche Untersuchung umfasst Herzauskultation (Herztöne, Herzrhythmus, Nebengeräusche, Fortleitung in die Carotiden oder die Axilla), Lungenauskultation (Klopfschall, Klopfschalldämpfung, Atemgeräusch, Rasselgeräusche), Erheben des abdominellen Status (Bauchdeckenkonsistenz, Druckschmerz, Resistenzen, Leber- und Milzgröße, Darmgeräusche, Anhalt für Aszites/Anasarka), Beurteilung von Ödemen (Ödeme der unteren bzw. oberen Extremitäten) und Ermitteln des Pulsstatus (Carotiden-, Radialis-, Ulnaris-, Femoralis-, Popliteal- und Fußpulse, Strömungsgeräusche).

Zur nichtapparativen Diagnostik der Herzinsuffizienz gehört die Labordiagnostik (unter anderem Bestimmung von Troponin T zum Ausschluss eines Herzinfarktes und von BNP bzw. NT-pro BNP als Marker für das Vorliegen einer Herzinsuffizienz).

Zur apparativen Diagnostik erfolgen zunächst ein EKG (Ausschluss von Herzrhythmusstörungen, Anhalt für einen Myokardinfarkt) und eine Röntgen-Thorax-Aufnahme (Ermittlung der Herzgröße, Abklärung von Pleuraergüssen, Ausschluss von Infiltraten und anderen Lungenerkrankungen).

Bei klinischem Verdacht auf Pleuraergüsse bzw. Ascites erfolgt eine Thorax- bzw. Abdomensonographie sowie bei Vorliegen von Pleuraergüssen bzw. Ascites im Anschluss ggf. eine ultraschallgestützte Pleura- bzw. Ascitespunktion sowie eine histologische und zytologische Abklärung des jeweiligen Punktates.

Zur weiteren Abklärung der Genese der Herzinsuffizienz werden eine transthorakale Echokardiographie, invasive Verfahren (Koronarangiographie, Myokardbiopsie) und ggf. ein MRT des Herzens durchgeführt.

**Tabelle 1:** Allgemeine klinische Herzinsuffizienzdiagnostik

Untersuchungsentität	Auswahl diagnostischer Parameter
Labor	NT-pro BNP, Troponin T, Blutbild, Kreatinin, Harnstoff, Elektrolyte, CRP, Transaminasen, Lipase, Bilirubin, Blutsenkungsgeschwindigkeit
EKG	Lagetyp, Herzrhythmus, Herzfrequenz, ST-Streckenveränderungen, Links-/Rechtsschenkelblock, Hypertrophiezeichen
Röntgen-Thorax	Herzgröße, pulmonale Stauung, Pleuraergüsse, Infiltrate, Lungenerkrankungen
Transthorakale Echokardiographie	Größe der Herzhöhlen, linksventrikuläre Ejektionsfraktion, diastolische Dysfunktion, Klappenfunktion, Kinetikstörungen, Perikarderguss, Peri-/Myokarditis, Thromben, intra-/interventrikuläre Asynchronität, Myokarddicke, Gewebedoppler, Speckle Tracking (Gewebedoppler zur verbesserten Einschätzung der linksventrikulären Funktion und zur Beurteilung von Wandbewegungsstörungen)
Herzkatheter	Koronarmorphologie, Klappenerkrankungen, invasive Drücke (linksventrikulärer enddiastolischer Druck)

Kardio-MRT	Myokard-Funktion, Late enhancement, Myokarditis, Gewebecharakterisierung, Diameter der Atrien/Ventrikel
------------	---

## II.6. Biomarker bei Herzinsuffizienz

Zur Kompensation und Antagonisierung einer Überaktivierung des Sympathikus und des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems werden natriuretische Peptide (ANP in den Herzvorhöfen und BNP im Ventrikel) als Teil eines endogenen Vasodilatatorensystems aktiviert und sezerniert, was zu einer verstärkten Natriumausscheidung und Vasodilatation führt. Ein Marker für die Herzinsuffizienz ist daher das im Serum bestimmbare BNP oder NT-pro-BNP. Bei NT-pro-BNP-Werten > 300 pg/ml ist eine Herzinsuffizienz wahrscheinlich (99 % Sensitivität, 60 % Spezifität, negativer prädiktiver Wert 98 % zum Ausschluss einer akuten Herzinsuffizienz) (Panagopoulou et al. 2013).

Neben dem BNP und NT-pro-BNP, die bereits im Klinikalltag als Herzinsuffizienzmarker etabliert sind, eignet sich das asymmetrische Dimethylarginin (ADMA) als Biomarker für kardiovaskuläre Ereignisse (Bouras et al. 2013). ADMA ist ein natürlich vorkommender Bestandteil des menschlichen Blutplasmas und lässt sich im menschlichen Blut und Urin nachweisen. Die Bestimmung der ADMA-Konzentration gelingt mit Hilfe eines ADMA-ELISA® (kompetitiver Enzymimmunoassay für die quantitative Bestimmung von ADMA im Serum oder Plasma). Aus der Aminosäure L-Arginin entsteht mit Hilfe der NO-Synthase Stickstoffmonoxid. ADMA fungiert als endogener Hemmstoff der Synthese von Stickstoffmonoxid (NO), indem es konzentrationsabhängig die NO-Synthase hemmt.

1992 entdeckten Patrick Vallance und seine Mitarbeiter die hohe Strukturähnlichkeit von L-Arginin und ADMA, das sich nur durch zusätzlich 2 Methylgruppen vom L-Arginin unterscheidet (Vallance et al. 1992a). Je höher die Konzentration von ADMA im Vergleich zu L-Arginin, umso weniger NO wird synthetisiert.

Vallance und Kollegen isolierten ADMA aus humanem Urin und konnten nachweisen, dass ADMA in vitro zu einer signifikanten und konzentrationsabhängigen Hemmung der NO-Bildung führt (Vallance et al. 1992b).

Im Vergleich dazu bewirkt symmetrisches Dimethylarginin (SDMA) als Isomer von ADMA keine Hemmung der NO-Synthese. Durch „Entkopplung“ der Enzymaktivität der NO-Synthase durch ADMA kann L-Arginin nicht mehr vollständig zu NO oxidiert werden, stattdessen entstehen Superoxidradikale ( $O_2^-$ ) (Böger 2003). Kultivierte humane Endothelzellen produzieren in Anwesenheit von ADMA vermehrt Superoxidradikale. Über die Aktivierung Redox-sensitiver Transkriptionsfaktoren, welche die Genexpression regulieren, kommt es zur Hochregulation von Adhäsionsmolekülen und somit zum verstärkten Anheften von Monozyten an der endothelialen Oberfläche und somit zum Fortschreiten der Arteriosklerose (Böger et al. 2000).

In mehreren Studien zeigte sich ein statistisch signifikanter und von anderen Risikomarkern unabhängiger Zusammenhang zwischen erhöhten ADMA-Spiegeln und dem Auftreten schwerwiegender kardiovaskulärer Ereignisse, sodass ADMA als unabhängiger Marker des kardiovaskulären Risikos bei der Arteriosklerose, Hypertonie, Hypercholesterinämie, Nikotinabusus, Diabetes mellitus, erektiler Dysfunktion, Herzinsuffizienz, Hyperhomocysteinämie, Präeklampsie und Leber- bzw. Nierenversagen immer mehr klinische Bedeutung erlangt (Teerlink et al. 2003).

## **II.7. Therapie der Herzinsuffizienz**

Die Therapie der Herzinsuffizienz erfolgt vor allem kausal (Behandlung der zugrundeliegenden Erkrankung, Ausschalten von Noxen wie zum Beispiel Alkoholverzicht bzw. Beendigung einer kardiotoxischen Chemotherapie). Desweiteren sollte zunächst eine pharmakologische Therapie eingeleitet werden. Meist wird die Herzinsuffizienz erst nach ihrer klinischen Manifestation im Stadium NYHA III-IV mit den oben genannten Symptomen festgestellt. Zu diesem Zeitpunkt bedarf es einer intensivierten pharmakologischen Therapie mit Hemmern des Renin-Angiotensin-Systems, ACE-Hemmern bzw. AT1-Antagonisten, Betablockern, Aldosteronantagonisten und ggf. Schleifendiuretika.

Neben der symptomatischen Therapie sollte auch abhängig von der Prognose der Erkrankung eine nicht pharmakologische Therapie zur Vermeidung des plötzlichen Herztodes diskutiert werden.

Erscheint die Ejektionsfraktion bei Patienten nach abgelaufenem Myokardinfarkt hochgradig reduziert  $\leq 30\%$ , wird nach den Ergebnissen der MADIT-II-Studie die Implantation eines ICDs (Implantierbarer Cardioverter-Defibrillator) zum Schutz vor plötzlichem Herztod empfohlen (Moss et al. 2002).

In der SCD-HeFT-Studie ist eine ICD-Implantation bei Patienten mit nichtischämischer und ischämischer Kardiomyopathie und einer Ejektionsfraktion  $< 35\%$  gegenüber einer Amiodarontherapie überlegen (Bardy et al. 2005).

Eine ICD-Implantation zur Primärprophylaxe bei dilatativer Kardiomyopathie mit einer Ejektionsfraktion  $< 35\%$  und nicht anhaltenden ventrikulären Tachykardien erbrachte in den Studien CAT, AMIOVIRT und DEFINITE gegenüber einer Amiodarontherapie jedoch keinen Unterschied bezüglich der Gesamtmortalität (Bänsch et al. 2002, Kadish et al. 2004, Strickberger et al. 2003). Allerdings konnte in der DEFINITE-Studie durch die ICD-Implantation eine Reduktion der arrhythmiebedingten Sterblichkeit von  $35\%$  nachgewiesen werden (Kadish et al. 2004).

Bei einer Herzinsuffizienz NYHA III-IV mit Vorliegen einer intra- bzw. interventrikulären Asynchronität wird in den Studien MUSTIC, PATH-CHF und MIRACLE die Einleitung einer kardialen Resynchronisationstherapie mit Implantation eines CRT-Systems zur Verbesserung der kardiopulmonalen Belastbarkeit und Reduktion der linksventrikulären Volumina empfohlen (Abraham et al. 2002, Cazeau et al. 2001).

Zusätzliche Therapieoptionen beinhalten voll implantierbare bzw. parakorporale linksventrikuläre Unterstützungssysteme (Left Ventricular Assist Devices = LVAD) zur Überbrückung der Wartezeit terminal herzinsuffizienter Patienten bis zur Herztransplantation, die intraaortale Ballonpumpe (IABP) bei myokardialen Pumpversagen zur Reduktion der linksventrikulären Nachlast und Verbesserung der Koronarperfusion, die Herztransplantation bei terminalem Herzversagen und eine palliative Therapie bei Herzinsuffizienzpatienten im Endstadium.

## **II.8. Die dilatative Kardiomyopathie (DCM)**

Die dilatative Kardiomyopathie ist eine Form der Herzinsuffizienz, die durch eine Kardiomegalie aufgrund einer Dilatation eines oder beider Ventrikel charakterisiert ist und mit einer systolischen Pumpfunktionsstörung mit einer eingeschränkten Ejektionsfraktion einhergeht (Grünig et al. 1995). Zusätzlich treten Störungen der diastolischen Funktion aufgrund einer verzögerten inkompletten Relaxation des Myokards mit vermehrter Steifigkeit auf. Jährlich erkranken 6 pro 100000 Einwohner. Die Prävalenz liegt bei 36 pro 100000 Einwohner, wobei Männer 2-3x häufiger betroffen sind als Frauen (Dec und Fuster 1994). Histopathologisch ist die DCM durch eine interstitielle Fibrose und strukturelle Alterationen der extrazellulären Matrix mit intrazellulären Schäden am Zytoskelett gekennzeichnet (Kapelko 2001). Ätiologisch unterscheidet man eine idiopathische Form, eine familiär genetische Form mit x-chromosomal rezessivem Erbgang durch Mutationen des Dystrophie-Gens, eine virale Form, die infolge einer Virusinfektion durch Entero-, Adeno- und Herpesviren und anderen auftritt, sekundäre Formen infolge von Alkoholkonsum oder infolge einer Chemotherapie sowie eine schwangerschaftsassoziierte Form.

Bei der DCM bestehen klinisch eine progressive Linksherzinsuffizienz, im späteren Verlauf eine globale Herzinsuffizienz sowie vor allem ventrikuläre Herzrhythmusstörungen. Der plötzliche Herztod kann infolge von ventrikulären Tachykardien, aber auch infolge arterieller Embolien aufgrund einer kardialen Thrombenbildung auftreten.

Zur Therapie der DCM ist neben der medikamentösen Therapie der Herzinsuffizienz vor allem die Therapie der prädisponierenden Erkrankung (Alkoholkarenz, Beendigung einer kardiotoxischen Chemotherapie, Behandlung der Virusinfektion etc.) wichtig. Weiterhin sollte über eine Thromboembolieprophylaxe mit Antikoagulantien bei Nachweis von Herzrhythmusstörungen wie Vorhofflimmern bzw. von kardialen Thromben und eine prophylaktische ICD-Implantation diskutiert werden.

## **II.9. Das Endothel und die Bildung von Stickstoffmonoxid (NO)**

Die Endothelzellen kleiden die Gefäßwand von innen aus und stellen somit den Kontakt zwischen dem strömenden Blut und der Gefäßwand her. Das Endothel reguliert den Gefäßtonus und interagiert mit den Leukozyten. Es bildet und setzt vasoaktive Substanzen wie Stickstoffmonoxid (NO bzw. EDRF), Prostaglandine und Endothelin frei, reguliert mit Hilfe vasoaktiver Substanzen wie Angiotensin I, Bradykinin, Serotonin, ADP, Adenosin und Noradrenalin den Um- bzw. Abbau, ist an der Homöostase von Thrombose und Fibrinolyse beteiligt durch Bildung von Plasminogen Aktivator (t-PA), Thrombomodulin, Plasminogen Aktivator Inhibitor (PAI-I), Plättchen-aktivierendem Faktor (PAF) und von-Willebrand-Faktor und reguliert die Leukozytenadhäsion durch Expression von Oberflächen-Adhäsionsmolekülen wie ELAM-1, ICAM-1 und VCAM-1 sowie den Lipid-Uptake durch Sekretion von Monozyten-Stimulationsfaktor, LDL- und Scavenger Rezeptor und LOX (Rezeptor für oxidiertes LDL) (Cines et al. 1998).

Bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz sind die Spiegel der Plasmaadhäsionsmoleküle ICAM-1 und VCAM-1 deutlich erhöht mit einem deutlichen Anstieg in der NYHA-Klasse IV (Savic-Radojevic et al. 2013).

Endotheliales Thrombomodulin ändert die Substratspezifität von Thrombin in Richtung auf die Spaltung von Plasmaprotein C in aktiviertes Protein C, welches sich gegen die thrombose- und entzündungsfördernde Aktivität des Thrombins richtet (Zaitsev et al. 2012).

Im engen Zusammenhang mit der Endothelfunktion steht die Konzentration von Stickstoffmonoxid (NO) im Blut. Im Jahre 1980 beobachteten Furchgott und Zawadski, dass die Gefäße unter Acetylcholin nur bei intaktem Endothel dilatieren. Sie fanden heraus, dass die Endothelzellen einen löslichen, übertragbaren „Faktor“ („Endothelium-Derived Relaxing Factor“ = EDRF), später als Stickstoffmonoxid (NO) identifiziert, sezernieren, dessen Freisetzung durch Acetylcholin stimuliert wird, während bei fehlendem bzw. geschädigtem Endothel, das heißt bei einer Endotheldysfunktion eine Vasokonstriktion infolge direkter Wirkung von Acetylcholin am glatten Gefäßmuskel auftritt (Furchgott und Zawadski 1980).

1998 erhielten Robert F. Furchgott, Louis J. Ignarro und Ferid Murad den Nobelpreis für ihre Entdeckungen von Stickstoffmonoxid (NO) als wichtigem Signalmolekül im kardiovaskulären System.

Stickstoffmonoxid wird von den Endothelzellen gebildet und aus L-Arginin mit Hilfe der NO-Synthasen (NOS) synthetisiert (Mendes-Ribeiro et al. 2009, Moncada 2006). NO diffundiert zur glatten Gefäßmuskulatur und aktiviert dort die lösliche Guanylatcyclase (sGC), die die Bildung von zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP) aus Guanosintriphosphat (GTP) katalysiert, was letztendlich zur Relaxation der glatten Gefäßmuskulatur führt. cGMP ist ein Second Messenger von mehreren wichtigen Signalkaskaden, der eine Anzahl von Gefäßzellarten beeinflusst und den Gefäßtonus, die endotheliale Permeabilität, das Zellwachstum und die Zelldifferenzierung sowie die Plättchen- und Blutzellinteraktionen reguliert (Boerrigter et al. 2009, Simonsen et al. 2009).



Die NO-Synthase hat 3 Isoformen: Die NOS I bzw. die neuronale Form (nNOS) wird im Nervengewebe gebildet. Die NOS II bzw. die induzierbare Form (iNOS) entsteht nur unter pathophysiologischen Bedingungen über die Induktion von Zytokinen, Endotoxinen bzw. Lipopolysacchariden (z.B. bei entzündlichen Prozessen, kardialer Dysfunktion bei dilatativer Kardiomyopathie, dem septischen Schock und der Zirrhose) (Drexler 1999). Die NOS III bzw. die endotheliale Form (eNOS) wird im Endothel calciumabhängig über rezeptorvermittelte Signalkaskaden bzw. über Scherkräfte am Endothel exprimiert.

Ramadoss et al. fanden heraus, dass die Aktivität der eNOS durch komplexe Regulationsprozesse verändert wird. Diese komplexen Regulationsvorgänge erfordern spezifische subzelluläre eNOS-Partitionierungen zwischen plasmamembrangebundenen und nichtgebundenen Kompartimenten. Die eNOS-Translokation von der Plasmamembran in die intrazellulären Kompartimente ist bedeutend für die eNOS-Aktivierung und die nachfolgende NO-Biosynthese (Ramadoss et al. 2013).

Stickstoffmonoxid fördert die Vasodilatation und hemmt die Thrombozytenaggregation, die Monozytenadhäsion, die Superoxidradikal-freisetzung, die Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen und die LDL-Oxidation und somit den Progress der Arteriosklerose und von kardiovaskulären Ereignissen.

## **II.10. Die endotheliale Dysfunktion**

Die Herzinsuffizienz geht mit einer fortschreitenden Endotheldysfunktion einher. Unter Endotheldysfunktion versteht man eine verminderte Aktivität bzw. Verfügbarkeit von Stickstoffmonoxid (NO), die nicht nur durch die endotheliale NO-Produktion, sondern auch durch die Inaktivierung von NO bzw. die Umwandlung oder den Einbau in andere Substanzen bestimmt wird (de Meirelles et al. 2011, Dorner et al. 2003).

Viele Erkrankungen, wie zum Beispiel die Herzinsuffizienz, die arterielle Hypertonie, die Arteriosklerose und die renale Dysfunktion, gehen einher mit einer erhöhten Bioverfügbarkeit an Sauerstoff-radikalen, verminderten NO-Spiegeln und einer reduzierten antioxidativen Kapazität (Popolo et al. 2013).

Die Arginase ist ein bedeutsamer Regulator der NO-Produktion, da sie mit der NO-Synthase um das Substrat L-Arginin konkurriert (Pernow und Jung 2013). Quitter et al. fanden heraus, dass eine erhöhte Arginase-Aktivität zu einer verminderten NO-Bioverfügbarkeit führt. Bei den Herzinsuffizienzpatienten waren die zirkulierenden Arginase-I-Spiegel signifikant höher als bei den gesunden Probanden und innerhalb der Gruppe der Herzinsuffizienzpatienten waren sie bei schwerer Herzinsuffizienz (NYHA-Klasse III-IV) signifikant höher als bei leichter Herzinsuffizienz (NYHA-Klasse I-II). Mittels topischer Gabe eines Arginase-Inhibitors verbesserte sich die Mikrozirkulation über einen NO-abhängigen Mechanismus (Quitter et al. 2013). Eine ansteigende Aktivität der Arginasen I und II führt zur Abkopplung der endothelialen NO-Synthase (eNOS), was zu vaskulärem oxidativem Stress und zu einer Entzündungsantwort führt und letztendlich in Gefäßerkrankungen resultiert (Yang und Ming 2013).

Die Endotheldysfunktion ist somit durch ein Überwiegen von oxidativem Stress gekennzeichnet, der proinflammatorisch, proliferativ und proarteriosklerotisch wirkt. Bei Mangel an zur NO-Synthese notwendigen Kofaktoren kann selbst die endotheliale NO-Synthase Sauerstoff-Radikale bilden, was für den intrazellulären Mangel an Tetrahydrobiopterin und L-Arginin gezeigt wurde (Cosentino et al. 1998, Vergnani et al. 2000).

Die Endothel-abhängige Vasodilatation eignet sich daher zur Messung der Endothelfunktion bzw. -dysfunktion.

Klinische und experimentelle Beobachtungen haben gezeigt, dass die chronische Herzinsuffizienz mit einer generalisierten Störung der endothelabhängigen Vasodilatation assoziiert ist. Diese endotheliale Dysfunktion resultiert aus einer verminderten Freisetzung oder einer gesteigerten Inaktivierung von Stickstoffmonoxid (NO), die den Gefäßwiderstand in der systemischen und pulmonalen Zirkulation ansteigen lassen kann und eine Rolle in der Progression des ventrikulären und vaskulären Remodelling in diesem Syndrom spielt (Mendes-Ribeiro et al. 2001, Landmesser und Drexler 2005, Carville et al. 1998, Stewart 1998, Stühlinger 2007).

Sakaruda et al. beschrieben, dass cGMP die Expression des Enzymes der Methylarginindimethylaminohydrolase (DDAH) steigert. DDAH metabolisiert das asymmetrische N<sup>G</sup>, N<sup>G</sup>-Dimethyl-L-Arginin (ADMA) und das N<sup>G</sup>-Monomethyl-L-Arginin (MMA), die kompetitive endogene Inhibitoren der NO-Synthase sind. DDAH besteht aus zwei Isoformen, DDAH-1 und DDAH-2. DDAH-2 dominiert in Geweben, die eNOS enthalten. Die Autoren beschrieben eine neue positive Rückkopplungsschleife, die aus cGMP, DDAH-2, ADMA/MMA und eNOS bestehen, die dazu dient, NO-Level in der endothelialen Umgebung aufrechtzuerhalten (Sakurada et al. 2008).

Außerdem berichteten mehrere klinische Studien und Tiermodelle über hohe Plasmaspiegel von ADMA, einem kompetitiven Inhibitor der NO-Synthasen, im Rahmen der chronischen Herzinsuffizienz mit gestörter NO-Produktion und Endotheldysfunktion (Saitoh et al. 2003, Feng et al. 1998, Usui et al. 1998, Kielstein et al. 2003). Dückelmann et al. fanden heraus, dass erhöhte ADMA-Plasmakonzentrationen die Vorhersagekraft des kardiovaskulären Risikos bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz erhöhen und dass die Quantifizierung von ADMA mit N-terminalen proBNP (NT-proBNP) die Risikostratifizierung in dieser Kohorte verbessert (Dükelmann et al. 2007).

Adiponektin ist ein antientzündliches, antiatherogenes Adipokin, das bei der Herzinsuffizienz erhöht ist und möglicherweise vor der endothelialen Dysfunktion durch die Beeinflussung der NO-Bioverfügbarkeit schützen kann. Tang et al. untersuchten Patienten mit chronisch systolischer Herzinsuffizienz und fanden heraus, dass die Adiponektinproduktion stärker mit der NO-Bioverfügbarkeit als mit der Entzündung und stärker mit der kardialen Dysfunktion bzw. mit erhöhten Spiegeln der natriuretischen Peptide verbunden ist (Tang et al. 2013).

Angesichts der demographischen Entwicklung und der steigenden Lebenserwartung der Bevölkerung sowie der Prävalenz und Morbidität der chronischen Herzinsuffizienz benötigt diese Strategien zur Prävention und frühen Entdeckung, um ein Fortschreiten der Erkrankung zu vermeiden.

#### **II.11. Flow Mediated Dilation (FMD)**

Zur Messung der endothelialen Dysfunktion an den großen Arterien hat sich in der Klinik die Flow Mediated Dilation bzw. die flussvermittelte Vasodilatation (FMD) der Arteria brachialis etabliert, welche 1992 erstmals durch Celermajer et al. beschrieben wurden (Celermajer et al. 1992).

Grundlage der FMD ist eine Vasodilatation als Antwort einer Hyperämie auf eine transitorische distale Ischämie durch Aufpumpen einer Blutdruckmanschette. Zunächst wird der Durchmesser der Arteria brachialis einen Zentimeter oberhalb der Brachialbifurkation im Bereich des Ellenbogens für einen Abschnitt von einem Zentimeter sonographisch mittels hochauflösenden Ultraschalls (mindestens 7,5 MHz) im B-Mode-Bild unter EKG-Ableitung R-Zacken-getriggert (enddiastolisch) gemessen.

Zur genauen Analyse erfolgen zehnmahlige Messungen des Durchmessers der Arteria brachialis mit Bestimmung eines Mittelwertes. Danach erfolgt das 5-minütige Aufpumpen einer Blutdruckmanschette auf 200 mmHg (ca. 50 mmHg über dem systolischen Blutdruck) am Unterarm distal zur gemessenen Arteria brachialis.

Eine Minute nach Ablassen der Blutdruckmanschette erfolgen wiederum mehrfache R-Zacken-getriggerte Messungen des Durchmessers der Arteria brachialis mit Mittelwertbildung. Aus dem Quotienten von Durchmesser nach Ablassen der Blutdruckmanschette (Hyperämie) und dem Durchmesser vor Aufpumpen der Blutdruckmanschette (Ausgangswert) wird der prozentuale Anteil der Dilatation der Arteria brachialis ermittelt.

Nachteile der FMD sind tageszeitabhängige und temperaturabhängige Schwankungen der Werte, das heißt FMD-Untersuchungen sollten möglichst zur gleichen Tageszeit und in Räumen mit konstanter Temperatur erfolgen. Weiterhin sollten alle vasoaktiven Medikamente (ACE-Hemmer, Statine, L-Arginin, Antioxidantien, Östrogene, Folsäure) am Vorabend und am Untersuchungstag aufgrund des Einflusses auf den vaskulären Tonus pausiert werden.

Am Untersuchungstag dürfen die Probanden keinen Kaffee und keinen Tee trinken, keine fett- oder zuckerreiche Mahlzeit zu sich nehmen und keine Zigaretten rauchen. Eine zehnminütige Ruhepause ist vor Untersuchungsbeginn erforderlich. Außerdem ist die FMD von der Phase des Menstruationszyklus und von der Einnahme von Hormonpräparaten abhängig. Der Durchmesser der Arteria brachialis beeinflusst die FMD-Ergebnisse (bei Durchmessern > 5 mm reduzierte FMD-Werte und bei Durchmessern < 2,5 mm höhere FMD-Werte) (Frick et al. 2002).

## **II.12. Die statische und dynamische Gefäßanalyse mittels Dynamic Vessel Analyzer (DVA)**

Eine attraktive nichtinvasive Methode, um die endotheliale Funktion an Gefäßen der Mikrozirkulation in vivo zu bewerten, ist die retinale Gefäßanalyse. Die wissenschaftlichen Grundlagen der retinalen Gefäßanalyse und des ersten Untersuchungsgerätes, dem Retinal Vessel Analyzer (RVA), wurde in den Jahren 1992 bis 1996 von der Jenaer Arbeitsgruppe um Vilser entwickelt. Nach weiterer Überarbeitung entstand der Dynamic Vessel Analyzer (DVA) der Firma IMEDOS Jena, mit dem der Gefäßdurchmesser retinaler Astgefäße entlang größerer Gefäßabschnitte gemessen werden und eine Bewertung in Abhängigkeit vom Ort entlang des Gefäßes und von der Zeit getroffen werden konnte (Nagel und Vilser 2004, Nagel et al. 2005, Nagel et al. 2006a).

Bereits seit der Erfindung des Augenspiegels versuchte man den Gefäßdurchmesser am Augenhintergrund mit verschiedenen Methoden der Feinmesstechnik zu messen. So wurde zum Beispiel von Zeiss das Lobeck-Okular (1930-1940) nach dem Prinzip der Bildfeldteilung entwickelt. Später wurden weitere Methoden auf Grundlage anderer Prinzipien entwickelt, die aber nicht ausreichend genau und unpraktikabel waren. Im Unterschied zur Gefäßanalyse nach Vilser beruhten diese Methoden auf einer Messung zu einem Zeitpunkt und an einem Ort.

Nach Vilser versteht man unter „Retinaler Gefäßanalyse“ die Messung vieler Gefäßdurchmesser entlang eines Gefäßabschnittes und in Abhängigkeit von der Zeit. Aus dieser Vielzahl der Messwerte werden Gefäßparameter berechnet, die den aktuellen Zustand oder die Funktion der Gefäße beschreiben. Um Gefäßfunktionen zu untersuchen, werden Gefäßantworten der retinalen Mikrozirkulation provoziert bzw. stimuliert und aufgezeichnet. Die aus der Aufzeichnung berechneten dynamischen Gefäßparameter beschreiben dann die mit der Provokation oder Stimulierung untersuchte Funktion.

Der Dynamic Vessel Analyzer (DVA) [Abbildung 1a+1b] ist ein kommerziell verfügbares System (Imedos Systems UG, Jena) zur statischen und dynamischen Gefäßanalyse der prä- und postkapillären Gefäße der retinalen Mikrozirkulation (kleine Arterien und Venen der Mikrozirkulation) mit Gefäßdurchmessern kleiner als 200  $\mu\text{m}$  (Nagel und Vilser 2004, Blum et al. 1999, Pache et al. 2002, Polak et al. 2002, Dorner et al. 2003).



**Abbildung 1a:** Der Dynamic Vessel Analyzer (DVA; Imedos Systeme UG, Jena, Deutschland)



**Abbildung 1b:** Untersuchungssituation bei der dynamischen Gefäßanalyse

Die statische Gefäßanalyse beruht auf Messungen des Gefäßdurchmessers in einem Einzelbild vom Augenhintergrund nach dem Messprotokoll der ARIC-Studie (Wong et al. 2002). Die Papille muss sich in der Bildmitte befinden. Um die Papille herum wird eine standardisierte ringförmige Messfläche gelegt, in der die Gefäße entlang ihres Verlaufes gemessen werden. Für jedes Gefäß wird aus den Messwerten entlang des Gefäßes ein Mittelwert bestimmt.



Aus den Mittelwerten werden dann die folgenden statischen Gefäßparameter nach dem Messprotokoll aus der ARIC-Studie berechnet:

Arteriellcs Zentraläquivalent der Retina (CRAE)

Venöses Zentraläquivalent der Retina (CRVE)

Arterio-Venöser Verhältniswert oder A/V-Ratio (AVR)

Das arterielle Zentraläquivalent wird aus den mittleren Gefäßdurchmessern aller Arterien berechnet, die einen Messring um die Papille schneiden. Ebenso wird das venöse Zentraläquivalent aus den mittleren Gefäßdurchmessern aller Venen berechnet, die diese ringförmige Messfläche schneiden. Die A/V-Ratio (AVR) ist der Quotient aus dem arteriellen Zentraläquivalent (CRAE) und dem venösen Zentraläquivalent (CRVE).

Mit Hilfe der statischen Gefäßanalyse sind bereits heute Aussagen zur Prognose von kardiovaskulären Erkrankungen möglich. Eine Verminderung der A/V-Ratio geht mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre sowie cerebrovaskuläre Erkrankungen einher. Dies kann durch eine Engstellung bzw. Verschmälerung der retinalen Arterien bewirkt werden, was bei Hypertonie-Patienten beobachtet wurde (Delles et al. 2004, Nagel et al. 2004). Weiterhin wurde bewiesen, dass Diabetes mellitus und das metabolische Syndrom mit einer reduzierten A/V-Ratio einhergehen. Weitere Arterien- und Venendiameter sind unabhängig vom Grad der Retinopathie mit einer Progression der diabetischen Retinopathie assoziiert (Mandecka et al. 2007). Im Rahmen der Rotterdam-Studie wurde im Zusammenhang mit der verminderten A/V-Ratio festgestellt, dass geringere Arteriendurchmesser mit zahlreichen kardiovaskulären Risikofaktoren wie einer ansteigenden Intima-Media-Dicke der Carotiden und weitere Venendurchmesser mit einer höheren Rate an Carotidenplaques und an Aortenkalzifizierung, einem geringerem Knöchel-Arm-Index, höheren Leukozytenraten, einer höheren Erythrozytensedimentationsrate (BSG), höherem Serumcholesterin, geringerem HDL, höherem Taillen-Hüften-Index und mit Nikotinabusus assoziiert sind (Mosterd et al. 1999).

Die dynamische Gefäßanalyse mit Flickerlicht untersucht die Funktion der Gefäße auf die Stimulation der Retina und der retinalen Mikrozirkulation mit Flickerlicht dilatieren zu können. Dazu werden eine arterielle und eine venöse Messstelle untersucht. Der DVA nimmt eine Bildfolge auf und misst den Gefäßdurchmesser entlang der ausgewählten Gefäßabschnitte und entlang der Zeit (von Bild zu Bild). So wird der mittlere örtliche Gefäßdurchmesser in Abhängigkeit von der Zeit aufgezeichnet (siehe Messkurven [Abbildung 2]). Nach dem Start der Messungen wird über 50 Sekunden die Baseline jedes Gefäßes aufgezeichnet (Baselinephase), dann erfolgt über 20 Sekunden die Aufzeichnung während des Flickerlichtes (Flickerphase) und dem folgt eine Nachphase über 80 Sekunden. Flicker- und Nachphase werden anschließend ohne Unterbrechung noch zweimal wiederholt.

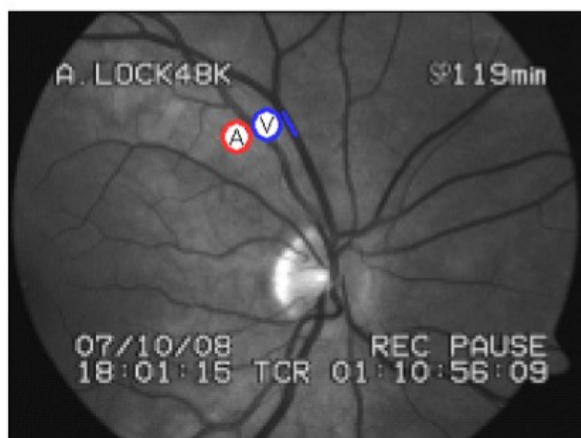
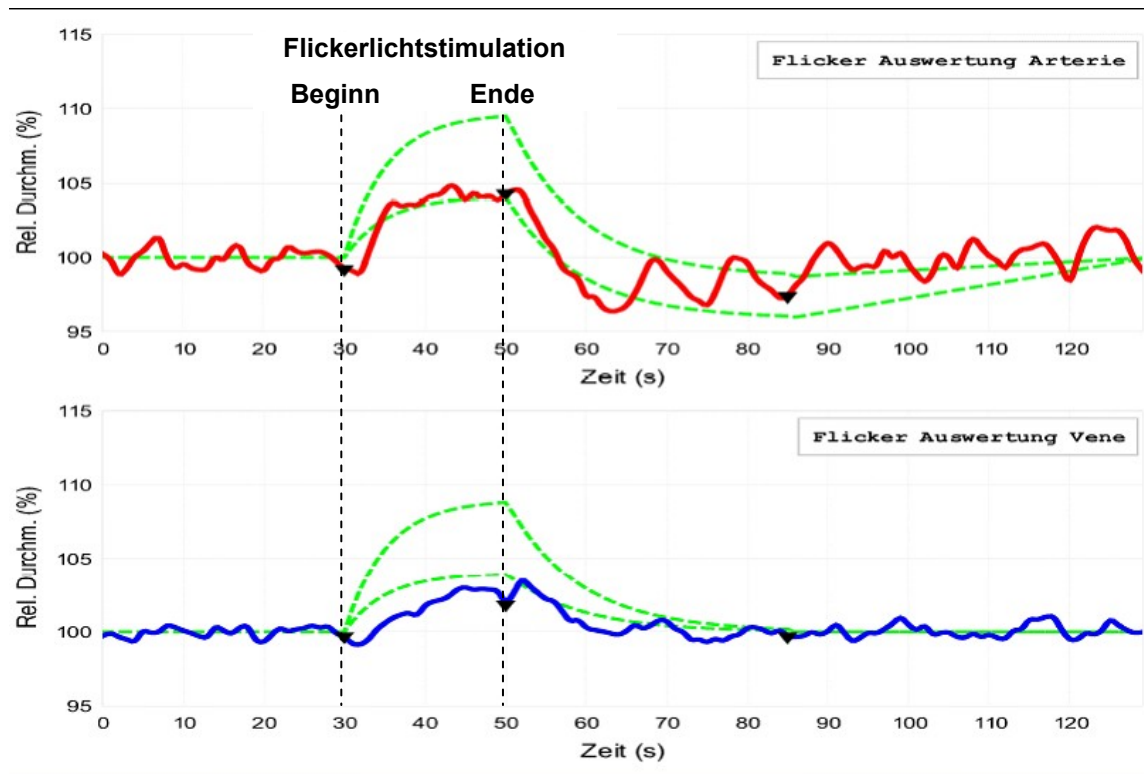
Nach den Messungen erfolgt automatisch die Berechnung einer mittleren Antwortkurve und der dynamischen Gefäßparameter jeweils getrennt für Arterien und Venen:

Baselinedurchmesser der Arterie Db<sub>a</sub> (im Protokoll: Ausgangswert-Arterie)

Baselinedurchmesser der Vene Db<sub>v</sub> (im Protokoll: Ausgangswert-Vene)

Flickerdilatation der Arterie (FD<sub>a</sub>) (im Protokoll: Max Dil-Arterie)

Flickerdilatation der Vene (FD<sub>v</sub>) (im Protokoll: Max Dil-Vene)



Arterie	<Local>	Normal Mean	Normal STD
Ausgangswert (ME)	134.04	-	-
Gültig (%) / Zyklen	89.7 / 3	>30	-
Max.Dil. (%)	+4.2	+6.9	±2.8
Max.Konstr. (%)	-1.8	-2.7	±1.4
Scheitelwert (%)	+6.0	+9.6	±3.0
Vene	<Local>	Normal Mean	Normal STD
Ausgangswert (ME)	150.03	-	-
Gültig (%) / Zyklen	88.9 / 3	>30	-
Max.Dil. (%)	+2.8	+6.5	±2.5

**Abbildung 2:** DVA: Beispiel einer normalen Veränderung des Arteriendurchmessers auf Flickerlicht gemessen mittels DVA in der gesunden Kontrollgruppe

Der Baselinedurchmesser wird als Mittelwert in der Baselinephase über 30 Sekunden vor dem Flickerbeginn berechnet. Die Flickerdilatation FD wird automatisch um das Flickerende ( $\pm 2$  Sekunden) bestimmt. Die relativen Werte für FDa bzw. FDv werden durch Normierung auf den mittleren Baselinedurchmesser Db berechnet.

Mehrere klinische Studien untersuchten den retinalen Gefäßdurchmesser während der Stimulation mit diffusem Flickerlicht (Nagel und Vilser 2004, Polak et al. 2002, Pemp et al. 2009, Schiel et al. 2009). Gesunde Gefäße reagieren auf Flickerlicht mit einer Vasodilatation [Abbildung 2].

Bei der dynamischen Gefäßanalyse mit dem DVA wird die Fähigkeit der retinalen Gefäße zur Dilatation auf einen Flickerlichtreiz hin als Reaktion der retinalen Mikrozirkulation geprüft. Beim Diabetes mellitus ohne bisher morphologisch festgestellte diabetische Retinopathie geht eine geringe oder fehlende Dilatation der retinalen Gefäße mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten bzw. das Fortschreiten einer diabetischen Retinopathie einher (Nguyen et al. 2009). Insbesondere zeigten Mandecka et al., dass bei der diabetischen Retinopathie eine kontinuierlich absinkende Vasodilatation der retinalen Arterien und Venen mit einem zunehmendem Stadium der diabetischen Retinopathie assoziiert ist. Die reduzierte Gefäßantwort ist bereits vor dem Auftreten einer diabetischen Retinopathie erkennbar (Mandecka et al. 2009).

Stickstoffmonoxid ist ein Mediator der retinalen Vasodilatation als Antwort auf Flickerlichtexposition (Dorner et al. 2003, Delles et al. 2004, Michelson et al. 2002, Mayer et al. 1999). Die endotheliale Dysfunktion ist assoziiert mit einer verminderten Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht, welche bei Patienten mit systemischen Erkrankungen einschließlich Bluthochdruck (Delles et al. 2004, Nagel et al. 2004, Nagel et al. 2006b) und Diabetes mellitus (Mandecka et al. 2007) gezeigt wurde.

### **III. Ziele der Arbeit**

Es erfolgt der Vergleich der dynamischen Gefäßanalyse zwischen gesunden Probanden und Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie. Anschließend erfolgt die Korrelation mit dem endogenen Inhibitor der NO-Synthese ADMA und klinischen Parametern. Zur Überprüfung der Einflussfaktoren der Veränderung des Arteriendurchmessers wird eine multivariate lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Weiterhin wird eine ROC-Kurvenanalyse (Receiver Operating Characteristics) zur Beurteilung der diagnostischen Sicherheit des Dynamic Vessel Analyzer in Bezug auf die dilatative Kardiomyopathie erstellt.

Die Hypothese dieser Arbeit lautet: Die dynamischen Gefäßanalyse (DVA) ist ein geeignetes Verfahren zur Messung der endothelialen Dysfunktion bei Herzinsuffizienzpatienten.

Demnach wird vermutet, dass solche Messungen der retinalen arteriellen Vasodilatation nach Flickerlichtexposition eine in vivo-Quantifizierung der endothelialen Dysfunktion bei Patienten mit einer chronischen Herzinsuffizienz erlauben. Dafür sollten Patienten mit einer arteriellen Hypertonie und einem Diabetes mellitus wegen des bestehenden Einflusses dieser Erkrankungen auf die retinalen Gefäßanalysen ausgeschlossen werden.

Langfristig besteht das Ziel darin, dass die dynamische Gefäßanalyse als nichtinvasive Untersuchung zur Risikoabschätzung der Entwicklung einer dilatativen Kardiomyopathie genutzt werden und somit das Vorliegen bzw. die Entwicklung einer dilatativen Kardiomyopathie vor dem Auftreten von Symptomen erkannt werden kann. Ferner bleibt zunächst offen, in wieweit diese Methode in Zukunft zur Prognoseabschätzung der dilatativen Kardiomyopathie und zur Therapiesteuerung bei Patienten mit dieser Erkrankung hilfreich sein kann.

## **IV. Methodik**

### **IV.1. Studienarme und Studiendesign**

Die DVA-Messung erfolgte an 2 Studienarmen, den gesunden Probanden und den an dilatativer Kardiomyopathie erkrankten Patienten mit Herzinsuffizienzsymptomatik.

Der Studienarm der gesunden Probanden umfasste kardiovaskulär gesunde Probanden einer Altersgruppe und Geschlechtsverteilung mittleren Alters, die zur Erfassung der Normalwerte am DVA dienen.

Die 2. Gruppe bestand aus Patienten mit nachgewiesener dilatativer Kardiomyopathie mit Herzinsuffizienzsymptomatik in einer möglichst vergleichbaren Alters- und Geschlechtsverteilung wie die gesunden Probanden, um zu erfassen, in welchem Umfang eine Endotheldysfunktion bei den Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie aufgetreten war.

Es handelt sich um eine offene kontrollierte Studie.

## IV.2. Ein- und Ausschlusskriterien

### IV.2.1. Gesunde Probanden

**Tabelle 2:** Ein- und Ausschlusskriterien der gesunden Probanden

Einschlusskriterien:	<ul style="list-style-type: none"><li>- gesunde Männer und Frauen (Studenten, Ärzte, Pflegekräfte)</li></ul>
Ausschlusskriterien:	<ul style="list-style-type: none"><li>- Arterielle Hypertonie</li><li>- Diabetes mellitus</li><li>- Koronare Herzkrankheit</li><li>- stattgehabte PTCA/Bypass-OP</li><li>- Myokardinfarkt</li><li>- Angina pectoris</li><li>- Periphere arterielle Verschlusskrankheit</li><li>- Herzinsuffizienz</li><li>- kardiale Dekompensation</li><li>- Kardiomyopathie</li><li>- Einnahme von Antihypertensiva, Herzinsuffizienzmedikamenten, oralen Antidiabetika bzw. Insulintherapie</li><li>- Schwangerschaft bzw. Stillzeit</li><li>- Augenerkrankungen (Glaukom, Katarakt, bestehende proliferative diabetische Retinopathie mit Glaskörpereinblutung, Visus &lt; 0,5, Myopie &gt; 7,0 dpt, Augenoperationen oder Augenverletzungen, Kontaktlinsentragen innerhalb der letzten 24 Stunden)</li><li>- Epilepsie</li><li>- Betreiben von Leistungssport</li><li>- Nüchtern-Glucose &gt; 7 mmol/l bzw. &gt; 126 mg/dl</li><li>- Blutdruck <math>\geq</math> 140 mmHg systolisch und <math>\geq</math> 90 mmHg diastolisch</li></ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Grippaler Infekt</li> <li>- Blutdruck vor Messbeginn &lt; 110 mmHg systolisch</li> <li>- Metabolisches Syndrom (nach ATPIII-Richtlinien dürfen nicht mehr als 2 der folgenden Kriterien erfüllt sein: <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Taillenumfang &gt; 102 cm bei Männern und &gt; 88 cm bei Frauen</li> <li>2. Serum-Triglycerid-Spiegel &gt; 150 mg/dl bzw. &gt; 1,69 mmol/l</li> <li>3. HDL-Cholesterin &lt; 40 mg/dl bzw. &lt; 1,04 mmol/l bei Männern und &lt; 50 mg/dl bzw. &lt; 1,29 mmol/l bei Frauen</li> <li>4. Systolischer Blutdruck <math>\geq</math> 130 mmHg oder diastolischer Blutdruck <math>\geq</math> 85 mmHg</li> <li>5. Nüchternglukose (&gt; 8 Stunden nüchtern) &gt; 110 mg/dl bzw. &gt; 6,1 mmol/l)</li> </ol> </li> </ul>
--	---



#### IV.2.2. Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie

**Tabelle 3:** Ein- und Ausschlusskriterien der Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie

Einschlusskriterien:	<ul style="list-style-type: none"><li>- Männer und Frauen</li><li>- klinisch und laborchemisch neu manifestierte koronarangiographisch, laevokardiographisch bzw. MR-tomographisch nachgewiesene dilatative Kardiomyopathie bzw. schon vorbekannte DCM mit einer reduzierten linksventrikulären Pumpfunktion</li><li>- klinisch stabiler Zustand</li></ul>
Ausschlusskriterien:	<ul style="list-style-type: none"><li>- akut dekompensierte Herzinsuffizienz NYHA IV</li><li>- Arterielle Hypertonie</li><li>- Diabetes mellitus</li><li>- Koronare Herzkrankheit</li><li>- stattgehabte PTCA/Bypass-OP</li><li>- Myokardinfarkt</li><li>- Angina pectoris</li><li>- Periphere Arterielle Verschlusskrankheit</li><li>- andere Form einer Kardiomyopathie (ischämische, restriktive, arrhythmogen rechtsventrikuläre und hypertrophische obstruktive bzw. nichtobstruktive Kardiomyopathie)</li><li>- Einnahme von oralen Antidiabetika bzw. Insulintherapie</li><li>- Schwangerschaft bzw. Stillzeit</li><li>- Augenerkrankungen (Glaukom, Katarakt, bestehende proliferative diabetische Retinopathie mit Glaskörpereinblutung, Visus &lt; 0,5, Myopie &gt; 7,0 dpt, Augenoperationen oder Augenverletzungen, Kontaktlinsentragen innerhalb der letzten 24 Stunden)</li></ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Epilepsie</li> <li>- Betreiben von Leistungssport</li> <li>- Nüchtern-Glucose &gt; 7 mmol/l bzw. &gt; 126 mg/dl</li> <li>- Blutdruck <math>\geq</math> 140 mmHg systolisch und <math>\geq</math> 90 mmHg diastolisch</li> <li>- Grippaler Infekt</li> <li>- Blutdruck vor Messbeginn &lt; 110 mmHg systolisch</li> <li>- Metabolisches Syndrom (nach ATPIII-Richtlinien dürfen nicht mehr als 2 der folgenden Kriterien erfüllt sein:             <ol style="list-style-type: none"> <li>6. Taillenumfang &gt; 102 cm bei Männern und &gt; 88 cm bei Frauen</li> <li>7. Serum-Triglycerid-Spiegel &gt; 150 mg/dl bzw. &gt; 1,69 mmol/l</li> <li>8. HDL-Cholesterin &lt; 40 mg/dl bzw. &lt; 1,04 mmol/l bei Männern und &lt; 50 mg/dl bzw. &lt; 1,29 mmol/l bei Frauen</li> <li>9. Systolischer Blutdruck <math>\geq</math> 130 mmHg oder diastolischer Blutdruck <math>\geq</math> 85 mmHg</li> </ol> </li> <li>- Nüchtern glukose (&gt; 8 Stunden nüchtern) &gt; 110 mg/dl bzw. &gt; 6,1 mmol/l)</li> </ul>
--	---

### **IV.3. Gefäßanalyse mittels Dynamic Vessel Analyzer (DVA)**

Der Dynamic Vessel Analyzer (DVA, Imedos Systeme UG, Jena, Deutschland) kann genutzt werden, um nichtinvasiv den Zustand (Statische Gefäßanalyse) und die Funktion (Dynamische Gefäßanalyse) der prä- und postkapillären Gefäße der retinalen Mikrozirkulation mit Gefäßdurchmessern kleiner als 200 µm zu untersuchen (Nagel und Vilser 2004, Blum et al. 1999, Pache et al. 2002, Polak et al. 2002, Dorner et al. 2003) [Abbildung 1]. Die Methode bietet eine hohe räumliche Gefäßweitenauflösung (Seifert und Vilser 2002), eine hohe zeitliche Auflösung (Vilser et al. 2002) und eine hohe Reproduzierbarkeit der Baseline- und Flickerlichtantwortmessungen der retinalen Gefäße (Polak et al. 2000, Pache et al. 2002, Nagel et al. 2006a, Gugleta et al. 2006).

Das DVA-System besteht aus einer modifizierten Netzhautkamera mit Kopplung an eine CCD-Meßkamera und einen PC mit hard- und softwareseitigen Mess-, Steuer- und Auswertemodulen und Datenbank sowie einem angeschlossenen Fundus- und Datenmonitor. Die Einheiten der Messung, Stimulation, Kontrolle, Bildverarbeitung und Speicherung werden mittels einer retinalen Funduskamera (FF450+) modifiziert.

Die Netzhautkamera beleuchtet den Augenhintergrund über ein spezielles Bandpassfilter für einen optimalen Kontrast der Gefäßabbildung im CCD-Messkamerasignal. Die messgenaue hochauflösende CCD-Kamera nimmt optische Netzhautbilder auf. Die Bildverarbeitungs- und Messprogramme bestimmen die Gefäßdurchmesser in den Abbildungen und sie kalkulieren die morphologischen (Statische Gefäßanalyse) und funktionellen (Dynamische Gefäßanalyse) Gefäßparameter in Übereinstimmung mit dem standardisierten Protokoll. Für die dynamische Gefäßanalyse wird eine Videosequenz (25 Bilder pro Sekunde, 30°-Gesichtsfeld) aufgenommen und in Echtzeit analysiert.

Zur Bildverarbeitung werden die TV-Bilder einem im PC integrierten Mess- und Steuermodul zugeleitet, das eine Messbildfolge digitalisiert und den Gefäßdurchmesser entlang des Ortes und in Abhängigkeit von der Zeit analysiert. Der Fundusmonitor stellt eine Bildfolge vom Augenhintergrund in Echtzeit gemeinsam mit dem gewählten Analysefenster dar.

Der Datenmonitor dient dem Dialogbetrieb zwischen DVA und Untersucher und stellt den Durchmesser in Abhängigkeit von der Zeit als Diagramm dar, über Mess- und Analyseergebnisse entsteht eine numerische bzw. grafische Darstellung.

Das DVA-Grundsystem lässt sich an ein Archivierungssystem für Messbildfolgen (Super Video Home System: SVHS-Rekorder) koppeln, dadurch ist eine offline-Gefäßanalyse an anderen Gefäßabschnitten unter gleichen Messbedingungen möglich. Weiterhin sind eine parallele digitale Aufzeichnung weiterer Messgrößen (EKG, Blutdruck, BGA) über entsprechende Schnittstellen und der Anschluss von Gerätesystemen zur Provokation der retinalen Mikrozirkulation möglich.

Der Gefäßdurchmesser ist definiert als Durchmesser der strömenden roten Blutzellensäule innerhalb der Gefäße unter Berücksichtigung von zeitlichen und örtlichen Veränderungen, daher ist eine ausreichende Anzahl von Messwerten notwendig (statistischer örtlicher und zeitlicher Erwartungswert). Die Mindestmesszeit beträgt 5 Sekunden, unter Berücksichtigung der blutdruckbedingten Vasomotorik mit Periodenlängen.

Zur Einschätzung der endothelialen Dysfunktion bei der dynamischen Gefäßanalyse wurde in dieser Untersuchung die retinale Arterienantwort auf Flickerlicht beleuchtet. Gesunde Arterien reagieren auf Flickerlicht mit einer Gefäßerweiterung. In der Erholungsphase verengt sich der Durchmesser bis zur Baseline mit einer überschießenden Periode (kurzzeitige Vasokonstriktion). Abbildung 2 zeigt eine normale Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht, die in der gesunden Kontrollgruppe gemessen wurde. Das Messprogramm ermittelt den Mittelwert der Arterienantwort auf Flickerlicht als einen relativen Wert zur Baseline (in Prozent) mittels Signaldurchschnittsberechnung (Signal Averaging) von drei Messzyklen (jeder mit Flickerphase und Ruheperiode). Desweiteren wird die maximale Flickerlichtdilatation und die maximale Konstriktion bewertet. Die Flickerlicht-induzierte retinale Arteriendilatation wird durch Stickstoffmonoxid vermittelt, das in dieser Reaktion hauptsächlich von der endothelialen NO-Synthase (eNOS) synthetisiert wird (Dorner et al. 2003, Delles et al. 2004, Michelson et al. 2002, Mayer et al. 1999).

#### **IV.4. Untersuchungsablauf**

Sechzehn Patienten mit einer dilatativen Kardiomyopathie und eingeschränkter linksventrikulärer Funktion (ermittelt mittels Koronarangiographie) sowie zweiundzwanzig gesunde Probanden wurden in der Studie aufgenommen. Die Untersuchung wurde durch die Abteilung Kardiologie des HELIOS-Klinikum Erfurt geleitet und die Patienten wurden während ihres stationären Aufenthaltes im HELIOS-Klinikum Erfurt ausgewählt. Die gesunde Kontrollgruppe wurde aus dem medizinischen Personal rekrutiert.

Nach Selektion der Probanden nach Ein- und Ausschlusskriterien erfolgte zunächst ein ausführliches Aufklärungsgespräch über den geplanten Untersuchungsablauf und die Ziele der Untersuchung. Die Möglichkeit des Abbruchs zu jeder Zeit der Untersuchung wurde erläutert und die schriftliche Einverständniserklärung wurde eingeholt. Die Patienten und gesunden Freiwilligen haben eine informierende Teilnahme- und Einverständniserklärung unterschrieben. Die Studie wurde von der Ethik-Kommission der Friedrich-Schiller-Universität Jena/Deutschland genehmigt (siehe Anhang: Votum der Ethik-Kommission Jena).

Zunächst wurde die Anamnese erhoben und der körperliche Gesundheitszustand aufgenommen mit Analyse der kardiovaskulären Risikofaktoren Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Nikotinabusus und Familienanamnese, Bestimmung des Body Mass Index (BMI), Erfragung aller Krankheiten und Aufnahme aller Medikamente.

Bei den Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie wurde das NYHA-Stadium der Herzinsuffizienz, der Zeitpunkt der Erstmanifestation, der echokardiographische und koronarangiographische Befund und die bisherige medikamentöse Herzinsuffizienztherapie erfasst. Es wurde weiterhin aufgenommen, ob der Patient bereits einen ICD bzw. ein CRT-System erhalten hatte. Ursachen der Herzinsuffizienz wurden bei jedem Patienten mittels Koronarangiographie abgeklärt.

Die arterielle Hypertonie wurde mittels Anamnese und 24-Stunden-Blutdruckmessung und der Diabetes mellitus mittels Bestimmung des HbA1c und des Serumglukosespiegels sowie mittels eines oralen Glukosetoleranztestes (oGTT) ausgeschlossen.

Intravenöse Blutentnahmen zur Bestimmung des Blutbildes, eines Gelegenheitsblutzuckers, der Blutgerinnung, der Nieren- und Elektrolytwerte, des Gesamtcholesterinspiegels, des LDL- und HDL-Cholesterin- sowie des Triglyceridspiegels, des TSH und der Entzündungswerte erfolgten bei allen eingeschlossenen Patienten und gesunden Probanden. Dazu wurden Blutproben (8,5 ml natives Blut und 6 ml EDTA-Blut) bei jedem Teilnehmer abgenommen. Innerhalb von 30 Minuten nach der Entnahme wurden die Blutproben für 10 Minuten bei 1500 Umdrehungen zentrifugiert. Zusätzlich erfolgte die Bestimmung der Konzentration von asymmetrischem Dimethylarginin (ADMA) in beiden Untersuchungsarmen, indem zweimal 1 ml von jeder Serum- oder EDTA-Plasmaprobe in zwei 1,5 ml-Polypropylen-Röhrchen transferiert und bei  $\leq 30\text{ }^{\circ}\text{C}$  tiefgefroren wurden. Die ADMA-Analyse erfolgte dann im Global Biomarker Research Pharma Research Center Wuppertal (siehe II.5.).

Vor der DVA-Messung erfolgte zunächst die Augeninnendruckmessung. Der Blutdruck wurde vor und nach der DVA-Untersuchung gemessen. Tee- und Kaffeeconsum sowie Rauchen waren zwei Stunden vor der DVA-Untersuchung nicht erlaubt. Physische Belastungen vor der Messung waren ebenfalls nicht gestattet.

Bevor die Untersuchung begann, musste die Pupille maximal weitgestellt sein und durfte nicht mehr auf Licht reagieren. Dazu erfolgte die Gabe von 2-3 Tropfen Tropicamid 1% (Mydrum®, Roche), ein nicht vasoaktives Mydriatikum, in das rechte Auge. Nach einer zehnmütigen Wartezeit bis zur vollständigen Mydriasis des rechten Auges konnte die DVA-Messung gestartet werden.

Um Bewegungsartefakte während der DVA-Messung zu vermeiden, hatte das DVA-Gerät eine spezielle Kopfstütze zur Fixierung des Kopfes des Probanden durch Auflage des Kinns auf der Kopfstütze und Anlegen der Stirn gegen diese mit individueller Einstellung der Kopfstütze je nach Größe des Probandenkopfes [Abbildung 1b].

Das DVA-Programm wurde gestartet, die Patientendaten wurden eingegeben und die Messbedingungen (Messzeit) wurden eingestellt. Die DVA-Messung erlaubte eine reflexfreie und kontrastreiche Einstellung des Augenhintergrundes mit der Netzhautkamera anhand des Fundus-Monitorbildes mit Positionierung des zu analysierenden Gefäßbereiches in der Bildmitte.

Am DVA-Gerät wurde dann vorerst die statische Gefäßanalyse erhoben. Der Proband schaute dazu auf eine externe Fixierleuchte. Durch eine Verstellung des Helligkeitsreglers und eines Schärfereglers des Objektivs wurde der ausgeleuchtete Fundus optimal im Okular abgebildet. Durch eine Veränderung der Position der externen Fixierleuchte wurde die Papille zentriert und durch Betätigung eines Auslöseknopfes am Kamerajoystick wurden mehrere Bilder des Augenhintergrundes im 30°-Ausschnitt des hinteren Augenpoles im Farb- und Schwarz-Weiß-Bild gemacht. Das jeweilige Bild wurde mittels einer integrierten Software („Vessel Map II“) gespeichert und ermöglichte die automatische Erstellung einer definierten Messringfläche entsprechend den Kriterien der ARIC-Studie (Wong et al. 2002). Dabei wurden verschiedene Durchmesser unterschiedlicher Gefäßbereiche der retinalen Arterien rot und der retinalen Venen blau in einem zirkulären Ring mit einer Entfernung von einem halben Papillendurchmesser um die Papille per Mausklick markiert. Vom PC-System wurden dann automatisch Mittelwerte der retinalen Arterien- und Venendurchmesser, die einen Messring um die Papille schneiden, als arterielles und venöses Zentraläquivalent der Retina (CRAE bzw. CRVE) bestimmt sowie der arterio-venöse Verhältniswert bzw. der Quotient aus CRAE und CRVE und somit die A/V-Ratio (AVR) berechnet.

Anschließend erfolgte die dynamische Gefäßanalyse am rechten Auge nach Abdecken des nicht zu untersuchenden Auges mit einer Augenklappe. Nach Festlegen eines Analysefensters wurde das temporale Segment einer retinalen Arterie und Vene mit einem Gefäßdurchmesser  $> 80 \mu\text{m}$  parapapillär in der Netzhautabbildung im Abstand von mindestens einem halben Papillendurchmesser und maximal bis zu drei Papillendurchmessern markiert. Dazu musste der Proband auf eine im Sichtfeld erkennbare Nadelspitze zur internen Fixation schauen, durch Veränderung der Position der Nadelspitze und damit der internen Fixation des Probanden konnte der Gefäßausschnitt optimal positioniert werden.

Wenn möglich, wurden Gefäßarkaden temporal oben ausgewählt. Bei suboptimaler Ausleuchtung bzw. unmöglicher Markierung der Gefäßarkaden temporal oben wurde das Messfenster nach temporal unten verlegt.

Dann wurde die dynamische Gefäßanalyse gestartet. Das Programm maß und nahm die Durchmesser entlang der Gefäßsegmente (seitliche Auflösung  $12,3 \mu\text{m}$ ) in Beziehung zur Zeit auf (von Bild zu Bild, zeitliche Auflösung von 40 Millisekunden). Der Gefäßdurchmesser wurde kontinuierlich über 350 Sekunden aufgenommen. Nach der Aufnahme einer 50-Sekunden-Baseline-Messung folgten drei Flickerlichtperioden. Diese Flickerlichtperioden dauerten 20 Sekunden an gefolgt von einer Ruheperiode von 80 Sekunden.

Eine Stimulation mit Flickerlicht mittels eines rechteckigen optoelektronischen Shutters des grünen Messlichtes (530-600 nm) mit einer Frequenz von 12,5 Hz über den gesamten  $30^\circ$ -Bildausschnitt der Funduskamera führte zur Dilatation von Arterien und Venen durch Ausschüttung von Stickstoffmonoxid.

Zur Durchführung der Flickerlichtperioden unterbrach eine Stimulationseinheit das grüne Beleuchtungslicht in einem abbildungssynchronen Weg (eine helle Abbildung, eine dunkle Abbildung, Hell-Dunkel-Kontrast 25:1). Die Messungen erfolgten immer während einer Flickerlichtperiode immer in einer hellen Abbildung.



Das Messprogramm beendete den Messvorgang automatisch nach einer definierten Messzeit. Es erfolgte die Ausgabe der Mittelwerte der erfassten Gefäße, der Zahl der Messungen pro Gefäß, des Variationskoeffizienten der Mittelwerte und der 95% Konfidenzintervalle der Mittelwerte der gemessenen Gefäße.

Das PC-System berechnete aus den Mittelwerten der 3 Untersuchungszyklen durch Überlagerung in Form eines Signalaveraging das Ausmaß der unter Flickerlicht aufgetretenen Vasodilatation sowie Scheitelwerte für die maximale Dilatation getrennt für retinale Arterien und Venen. Störfaktoren wie Augenzwinkern wurden von der Software erkannt und herausgelöscht. Die Messwerte wurden in relativen Einheiten (RU) angegeben, da der Abbildungsmaßstab des jeweils individuellen Auges nicht bekannt war. Wies das Auge die Maße des Gullstrand'schen Normalauges auf, entsprachen die Messwerte Mikrometer. Die Messauflösung senkrecht zum Gefäßverlauf war < 1 µm.

Nach Beendigung der Untersuchung konnte eine Datenanalyse intern mit DVA-Analyseprogrammen oder extern mit fremden Programmen erfolgen. Es bestand die Option zur wiederholten Online-Messung am Patienten unter den gleichen Messbedingungen in einer weiteren Sitzung bzw. Nachmessungen am Videoband konnten offline erfolgen.

#### **IV.5. Messung von asymmetrischem N<sup>G</sup>,N<sup>G</sup>-Dimethyl-L-Arginin (ADMA)**

Die Analyse des Biomarkers ADMA (asymmetrisches N<sup>G</sup>,N<sup>G</sup>-Dimethyl-L-Arginin) erfolgte in der Bayer Health Care AG (Global Biomarker Research Pharma Research Center Wuppertal). Pro Patient bzw. Proband erfolgte eine einmalige ADMA-Analyse. Dazu wurde ein kommerziell erwerblicher Immunoassay (ELISA) genutzt (DLD Diagnostika GmbH Hamburg/Deutschland, REA201/96). Der Assay wurde entsprechend der Empfehlungen des Herstellers ausgeführt. Die durchschnittliche minimal zu detektierende Konzentration (MDC) zur ADMA-Analyse betrug 0,05 µmol/l. Die Intra-assay-Präzision bestimmt als Variationskoeffizient (CV) für den ADMA-ELISA lag entsprechend bei 4,39 %.

#### **IV.6. Die Statistische Analyse**

Deskriptive zusammenfassende Statistiken (Mittelwerte +/- Standardabweichung, Häufigkeiten und Prozentsätze) wurden genutzt, um die Grundcharakteristika der Studienpopulation zu beschreiben. Zum Vergleich der Grundcharakteristika der Studienteilnehmer beider Gruppen wurden der Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Parameter (Alter, Geschlecht, Blutdruck, Laborwerte) und der exakte Test nach Fischer mittels Kreuztabellenanalyse (Chiquadrat-Test) für die Parameter Raucher/Nichtraucher und Medikamenteneinnahme/keine Medikamenteneinnahme verwendet. Zur Beurteilung der Verteilung der Daten wurde der Shapiro-Wilk-Test genutzt.

Gruppenspezifische Unterschiede der Veränderung des arteriellen Durchmessers und der Serum-ADMA-Spiegel wurden verglichen mittels des Mann-Whitney-U-Testes und lokale Veränderungen zwischen den Gruppen wurden mittels des Hodges-Lehmann-Hochrechners (HL) quantifiziert.

Zusätzlich wurde eine multivariate lineare Regressionsanalyse ausgeführt, um die Veränderung des arteriellen Durchmessers an die Basis-Kovariablen anzupassen. Als Einflussfaktoren wurden der Ausgangswert (wahrer arterieller Basis-Durchmesser = abhängige Variable), die Gruppe und die Variablen Alter, systolischer Blutdruck und Geschlecht (unabhängige Variablen) gewählt.

Eine ROC-Kurven-Analyse (ROC = Receiver Operating Characteristic) wurde erstellt, um die Genauigkeit des diagnostischen Verfahrens zu evaluieren (zum Beispiel Unterscheidung zwischen DCM-Patienten und gesunden Probanden mittels der Veränderung des arteriellen Durchmessers).

Die Beziehung zwischen den Serum-ADMA-Spiegeln und der Veränderung des Arterien durchmessers und zwischen den Serum-ADMA-Spiegeln und dem Alter wurden mittels des Spearman-Rang-Korrelationskoeffizienten (zweiseitiger Test) bewertet. P-Werte  $\leq 0,05$  wurden als statistisch signifikant betrachtet. Die Statistische Analyse wurde mittels der IBM SPSS-Statistik 18-Software (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) und mittels SAS 9.2 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) durchgeführt.

## **V. Ergebnisse**

### **V.1. Grundcharakteristik der Studienteilnehmer**

Grund-Charakteristika aller Teilnehmer, die in dieser Studie eingeschlossen wurden, werden in Tabelle 4 gezeigt. Die Annahme der Normalverteilung der Daten konnte durch den Shapiro-Wilk-Test in Bezug auf die Veränderungen des Arterien durchmessers nicht bestätigt werden. Dafür wurden nichtparametrische Messungen und Prozeduren in allen univariaten statistischen Analysen genutzt.

Wie aus Tabelle 4 zu entnehmen ist, sind die Gruppe der gesunden Probanden und die Gruppe der Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie in der Geschlechtsverteilung, im Bereich des systolischen Blutdrucks, des Raucherstatus, der Hämoglobin- und der Leukozytenwerte nicht signifikant unterschiedlich. Die Serumkreatininwerte unterscheiden sich bei den Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie nicht von denen der gesunden Probanden.

Signifikante Unterschiede bestehen im Altersspektrum beider Gruppen und im Bereich des C-reaktiven Proteins. Die Gruppe der DCM-Patienten ist signifikant älter als die Gruppe der gesunden Probanden (im Durchschnitt 52,8 Jahre versus 35,1 Jahre). Das C-reaktive Protein ist in der Gruppe der DCM-Patienten signifikant höher als in der Gruppe der gesunden Probanden (6,5 mg/l vs. 3,5 mg/l).

Die Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie sind bereits auf eine Herzinsuffizienztherapie mit ACE-Hemmer, Betablocker und Diuretikum eingestellt, während die gesunden Probanden nach Abklärung der Ein- und Ausschlusskriterien keine Hemmer des Renin-Angiotensin-Systems, keine Betablocker und keine Diuretika einnehmen. Hier bestehen ebenfalls signifikante Unterschiede.

**Tabelle 4:** Grundcharakteristik der Studienteilnehmer (N=38): Die präsentierten Daten sind Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung oder Anzahl der Probanden (in Prozentzahlen).

	Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie (N=16)		Gesunde Probanden (N=22)		
	N	Mittelwert $\pm$ Standardabweichung /Häufigkeit (%)	N	Mittelwert $\pm$ Standardabweichung /Häufigkeit (%)	p-Werte
Alter (Jahre)	16	52,8 $\pm$ 12,0	22	35,1 $\pm$ 7,8	<0,001*
Männliches Geschlecht (%)	16	9 (56,3)	22	10 (45,5)	0,743
Systolischer Blutdruck (mmHg)	16	118,5 $\pm$ 9,5	22	120,0 $\pm$ 5,3	0,199
Raucher (%)	16	3 (18,8)	22	4 (18,2)	1,000
Hämoglobin (mmol/l)	16	9,3 $\pm$ 1,0	19	8,7 $\pm$ 0,7	0,067
Leukozyten (Gpt/l)	16	7,9 $\pm$ 2,4	22	7,5 $\pm$ 1,8	0,699
CRP (mg/l)	15	6,5 $\pm$ 8,1	22	3,5 $\pm$ 2,2	0,009*
Serumkreatinin ( $\mu$ mol/l)	16	96,3 $\pm$ 24,6	22	85,6 $\pm$ 13,6	0,100
ACE-Hemmer (%)	16	11 (68,8)	22	0 (0,0)	<0,001*
Betablocker (%)	16	16 (100,0)	22	0 (0,0)	<0,001*
Diuretika (%)	16	14 (87,5)	22	0 (0,0)	<0,001*

\*= signifikant

## **V.2. Auswertung der statischen Gefäßanalyse bei den gesunden Probanden und bei den Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie (DCM)**

Die A/V-Ratio (AVR) als arteriovenöser Verhältniswert bzw. Quotient aus dem arteriellen (CRAE) und dem venösen Zentraläquivalent (CRVE) lag im Referenzbereich der Normalbevölkerung der ARIC-Studie (Wong et al. 2002) und war nicht signifikant unterschiedlich zwischen den DCM-Patienten und den gesunden Probanden [Tabelle 5].

**Tabelle 5:** A/V-Ratio der DCM-Patienten und der gesunden Probanden

	Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie (N=16)		Gesunde Probanden (N=22)		
	N	Mittelwert ± Standardabweichung	N	Mittelwert ± Standardabweichung	p-Wert
A/V-Ratio	16	0,85 ± 0,061	22	0,83 ± 0,052	0,126

## **V.3. Auswertung der Ergebnisse der dynamischen Gefäßanalyse (DVA)**

### **V.3.1. Auswertung der DVA-Ergebnisse bei den gesunden Probanden**

Bei den gesunden Probanden erweiterten sich die retinalen Arterien während der Flickerlichtphase regelrecht (Arteriendilatation um 4,42 %) und verengten sich nach Beendigung der Flickerlichtphase wiederum regelrecht bis zum Ausgangswert vor Flickerlichtstimulation [Tabelle 6] [Abbildung 2, siehe Kapitel II.12]. Die Kurve der Veränderung des retinalen Arteriendurchmessers befand sich im Normbereich innerhalb eines minimalen und eines maximalen Wertes. Zum Teil reagierten die retinalen Arterien auf den Flickerlichtreiz überschießend mit Werten über dem Maximalwert. Während der Ruhephase ohne Flickerlichtreiz befand sich der Durchmesser der retinalen Arterien in einem Niveau mit physiologisch kleinen Schwankungen als Marker für eine neurovaskuläre Gefäßantwort.

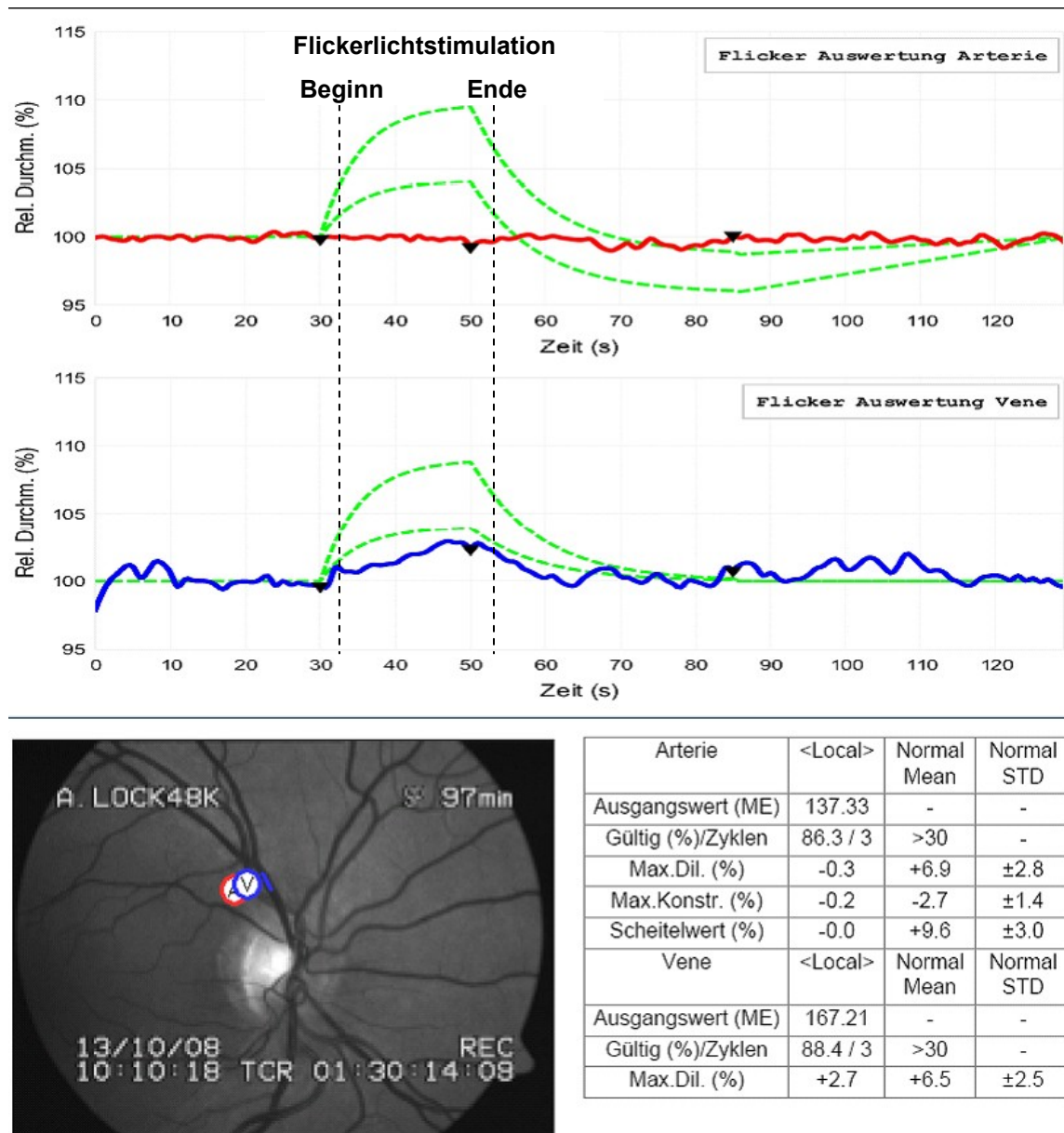
### V.3.2. Auswertung der DVA-Ergebnisse bei den DCM-Patienten

Bei den Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie verblieben die retinalen Arterien Durchmesser auch während der Flickerlichtphase auf dem Ausgangsniveau (Arterien dilatation um 0,81 %), erweiterten sich demnach auf den Flickerlichtreiz hin nur geringfügig [Tabelle 6] [Abbildung 3]. Während der Ruhephase waren die physiologischen Schwankungen bei einigen Patienten vollständig aufgehoben, bei einigen DCM-Patienten waren die Schwankungen noch vorhanden.

**Tabelle 6:** Arteriellcs Zentraläquivalent der Retina (CRAE), absoluter arterieller Basis-Durchmesser und relative Veränderung des arteriellen Durchmessers (N=38)

	Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie (N=16)		Gesunde Probanden (N=22)		
	N	Mittelwert ± Standardabweichung	N	Mittelwert ± Standardabweichung	p-Wert
Arteriellcs Zentraläquivalent (CRAE)	16	192,8 ± 9,5 µm	22	186,2 ± 11,7 µm	0,152
Absoluter arterieller Basis-Durchmesser	16	135,4 ± 12,9 µm	22	121,8 ± 16,9 µm	0,008*
Relative Veränderung des arteriellen Durchmessers	16	0,81 ± 1,00 %	22	4,42 ± 1,33 %	<0,001*

\*= signifikant



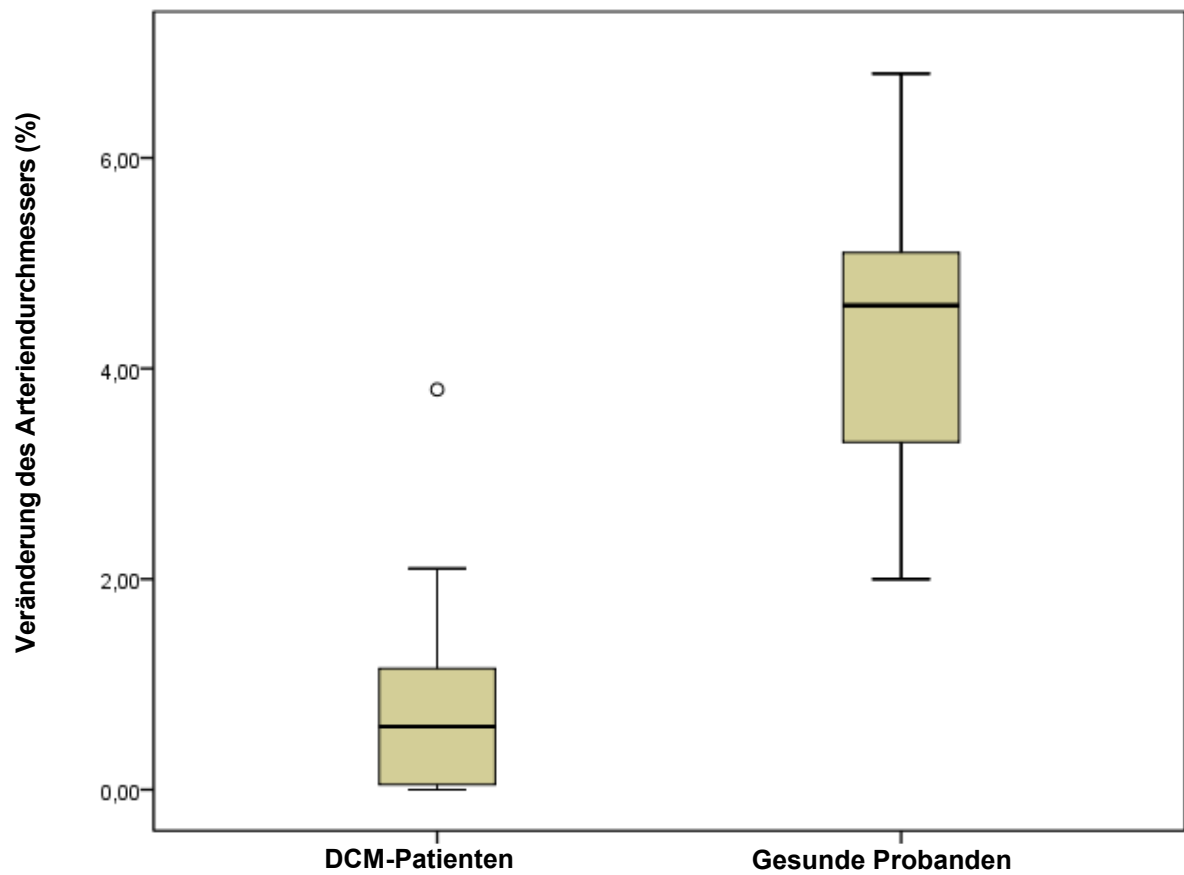
**Abbildung 3:** Beispiel einer reduzierten Veränderung des Arterien­durchmessers auf Flickerlicht gemessen mittels DVA bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie

#### **V.4. Vergleich der DVA-Ergebnisse zwischen den gesunden Probanden und den DCM-Patienten**

Die Arterien-Basis-Durchmesser waren bei den gesunden Probanden zunächst geringer als bei den Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie (121,8  $\mu\text{m}$  versus 135,4  $\mu\text{m}$ ) [Tabelle 6]. Dieser Unterschied war signifikant (p-Wert = 0,008). Unter Flickerlichtstimulation erweiterten sich die Arterien bei den gesunden Probanden in Relation zum Baseline-Durchmesser signifikant stärker als die Arterien bei den DCM-Patienten (Median 4,60 % vs. 0,60 %, HL-Hochrechner: -3,70, 95%-Konfidenzintervall (CI): -4,50 zu -2,90; p-Wert < 0,001) [Abbildung 4] [Tabelle 7] ).

Bei den gesunden Probanden besteht ein leicht positiver Zusammenhang (Korrelationskoeffizient = 0,136) zwischen Ausgangswert (arteriellem Basisdurchmesser) und arterieller Dilatation in der Stichprobe, dieser ist jedoch nicht signifikant. Bei den DCM-Patienten ist ein leicht negativer Zusammenhang (Korrelationskoeffizient = -0,120) zwischen Ausgangswert und Dilatation zu sehen, das heißt höhere Ausgangswerte gehen tendenziell mit leicht geringeren Dilatationen einher. Dieser Zusammenhang ist aber eher schwach und auch nicht signifikant. Somit korrelieren die arteriellen Basisdurchmesser in beiden Gruppen jeweils nicht mit den Werten der arteriellen Dilatation.





**Abbildung 4:** Veränderung des Arterienradius auf Flickerlicht gemessen mittels DVA bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie verglichen mit der gesunden Kontrollgruppe

**Tabelle 7:** Prozentuale Veränderung des Arteriendurchmessers und ADMA-Werte der Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie verglichen mit der gesunden Kontrollgruppe

	Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie		Gesunde Probanden		Hodges-Lehmann-Hochrechner (95% Konfidenzintervall)	p-Werte*
	n	Median	n	Median		
Veränderung des Arteriendurchmessers (%)	16	0,60	22	4,60	-3,70 (-4,50; -2,90)	<0,001
ADMA (µmol/l)	16	0,66	22	0,62	0,07 (-0,01; 0,15)	0,099

\* Mann-Whitney-U-Test

Nach Adjustierung an den wahren arteriellen Basis-Durchmesser des gemessenen Gefäßes zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Veränderung des arteriellen Gefäßdurchmessers der gesunden Probanden und der DCM-Patienten. Konkret haben die gesunden Probanden eine um 3,77 % höhere Dilatation als die DCM-Patienten und dieser Unterschied ist signifikant (p-Wert < 0,001). Das bedeutet, dass diejenigen Gefäße mit einem weiten Gefäßdurchmesser nicht unbedingt diejenigen sind, die am geringsten dilatieren, sondern dass zwischen der Dilatationsfähigkeit und der Weite des Gefäßes kein direkter Zusammenhang besteht und dies gilt für beide Gruppen.

Nach Anpassung an das Alter, das Geschlecht und den Blutdruck (unabhängige Variablen) sowie am wichtigsten an den arteriellen Basis-Durchmesser des jeweils gemessenen Gefäßes (abhängige Variable) verblieb der Unterschied der Veränderung des Arteriendurchmessers zwischen den beiden Gruppen signifikant (p-Wert < 0,001) [Tabelle 8]. In dieser linearen Regressionsanalyse konnte die Normalverteilung der verbliebenen Parameter vom Shapiro-Wilk-Test bestätigt werden (p-Wert = 0,369).

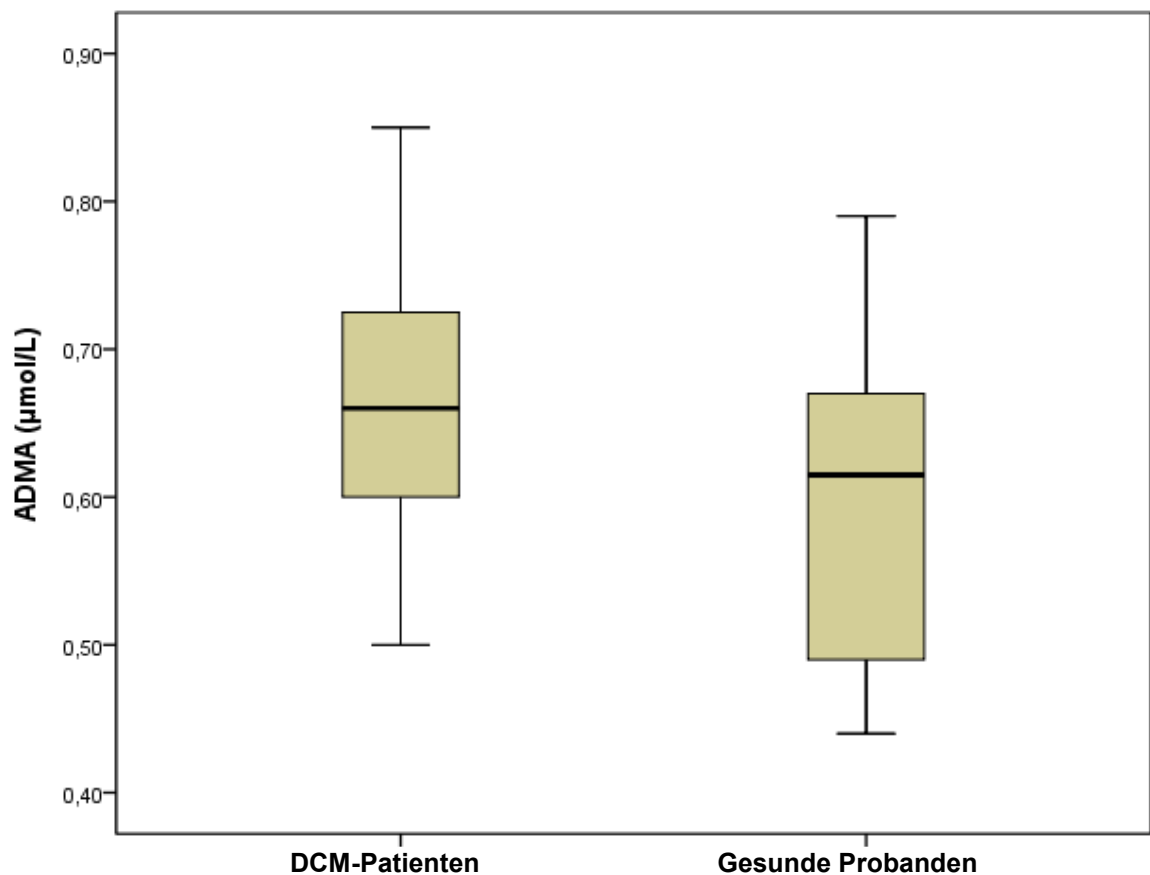
**Tabelle 8:** Multivariate lineare Regressionsanalyse der Veränderung des Arterien­durchmessers auf die Basis-Kovariable und die Gruppenvariablen (N=38)

	Regressionskoeffizient	p-Wert
Alter	0,012	0,623
Systolischer Blutdruck	-0,029	0,340
Geschlecht	-0,443	0,280
Arterieller Basis-Durchmesser des jeweils gemessenen Gefäßes	0,013	0,365
Gruppe (DCM-Patienten versus gesunde Probanden)	4,001	<0,001*

\* signifikant

### V.5. Auswertung der ADMA-Messungen der gesunden Probanden und der DCM-Patienten

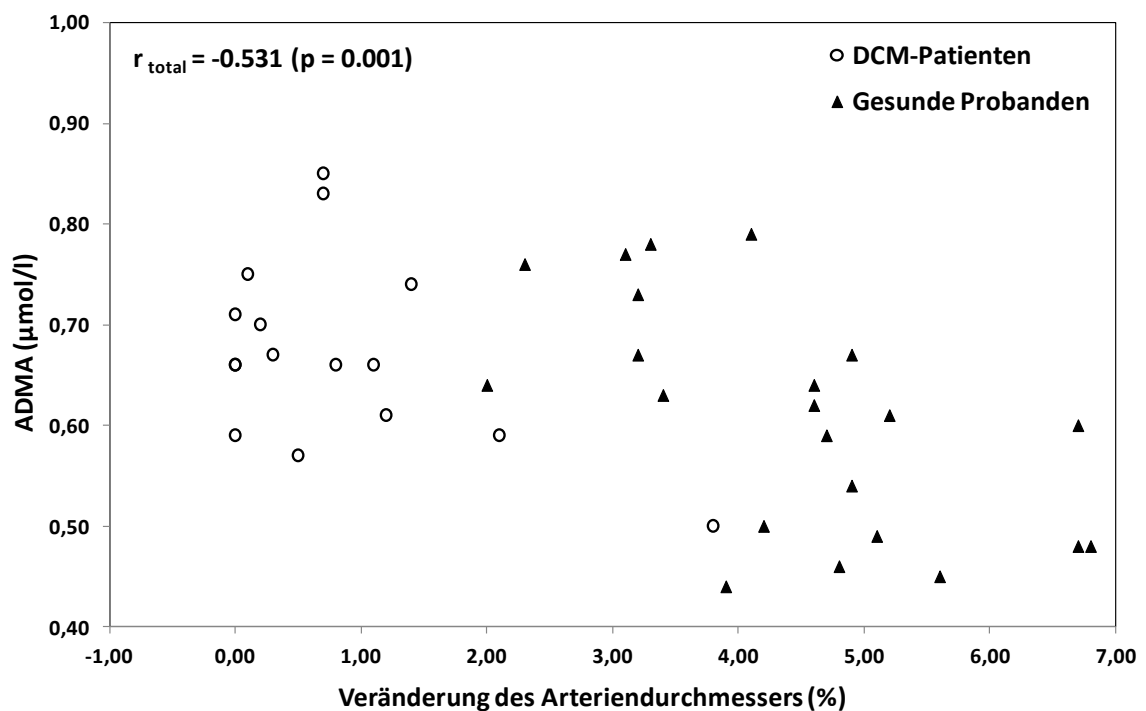
Die Serum-ADMA-Spiegel der Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie (im Mittel 0,66  $\mu\text{mol/l}$ ) und der gesunden Probanden (im Mittel 0,62  $\mu\text{mol/l}$ ) unterschieden sich nicht signifikant voneinander (HL-Hochrechner: 0,07, 95%-Konfidenzintervall: -0,01 zu 0,15; p-Wert = 0,099) [Tabelle 7] [Abbildung 5].



**Abbildung 5:** Serum-ADMA-Spiegel der Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie verglichen mit der gesunden Kontrollgruppe

## V.6. Korrelation der DVA-Ergebnisse mit den Ergebnissen der ADMA-Messungen

Es zeigte sich eine signifikant inverse Korrelation zwischen den Serum-ADMA-Spiegeln und der Veränderung des arteriellen Durchmessers (Arteriendilatation) auf Flickerlicht (Spearman-Rang-Korrelationskoeffizient  $r = -0,531$ ,  $p$ -Wert = 0,001) [Abbildung 6].



**Abbildung 6:** Streudiagramm der Korrelation zwischen der mittels DVA gemessenen Veränderung des Arteriendurchmessers unter Flickerlicht und den Serum-ADMA-Spiegeln

### V.7. Korrelation zwischen Alter und der relativen Veränderung des Arterien­durchmessers in jeder Gruppe

Zwischen Alter und der relativen Veränderung des Arterien­durchmessers konnte keine signifikante Korrelation festgestellt werden, sowohl in der Gruppe der gesunden Probanden (Korrelationskoeffizient nach Spearman  $r = -0,221$ ,  $p = 0,322$ ) als auch in der Gruppe der DCM-Patienten (Korrelationskoeffizient nach Spearman  $r = 0,286$ ,  $p = 0,283$ ) [Tabelle 9].

**Tabelle 9:** Nichtparametrische Korrelationen zwischen Alter und der relativen Veränderung des arteriellen Durchmessers

		Relative Veränderung des arteriellen Durchmessers bei den gesunden Probanden (%)	Relative Veränderung des arteriellen Durchmessers bei den DCM- Patienten (%)
Alter	Korrelationskoeffizient nach Spearman (r)	-0,221	0,286
	Signifikanz (2-seitig) (p-Wert)	0,322	0,283

### V.8. Korrelation zwischen Alter und ADMA in jeder Gruppe

Zwischen Alter und ADMA bestand ein signifikant positiver Zusammenhang in der Gruppe der gesunden Probanden (Korrelationskoeffizient nach Spearman  $r = 0,485$ ,  $p = 0,022$ ). Je älter die gesunden Probanden waren, desto höhere ADMA-Spiegel wiesen sie demnach auf. Bei den DCM-Patienten bestand keine signifikante Korrelation zwischen Alter und ADMA (Korrelationskoeffizient nach Spearman  $r = 0,141$ ,  $p = 0,601$ ) [Tabelle 10].

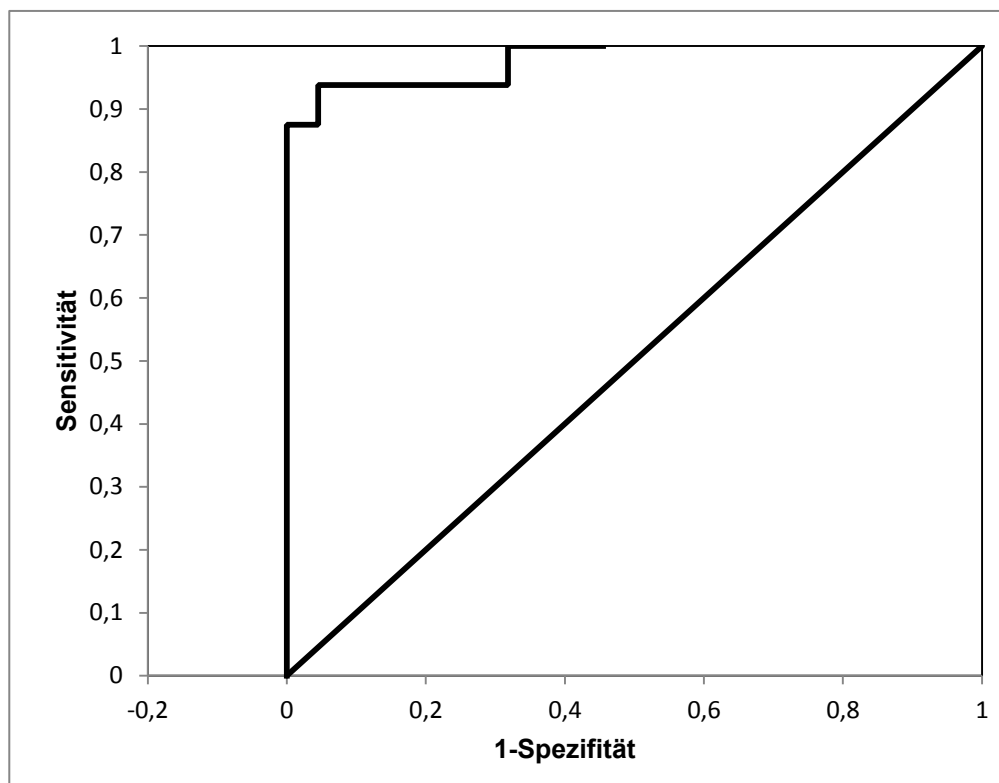
**Tabelle 10:** Nichtparametrische Korrelationen zwischen Alter und ADMA

		ADMA bei den gesunden Probanden	ADMA bei den DCM-Patienten
Alter	Korrelationskoeffizient nach Spearman (r)	0,485	0,141
	Signifikanz (2-seitig) (p-Wert)	0,022*	0,601

\* signifikant

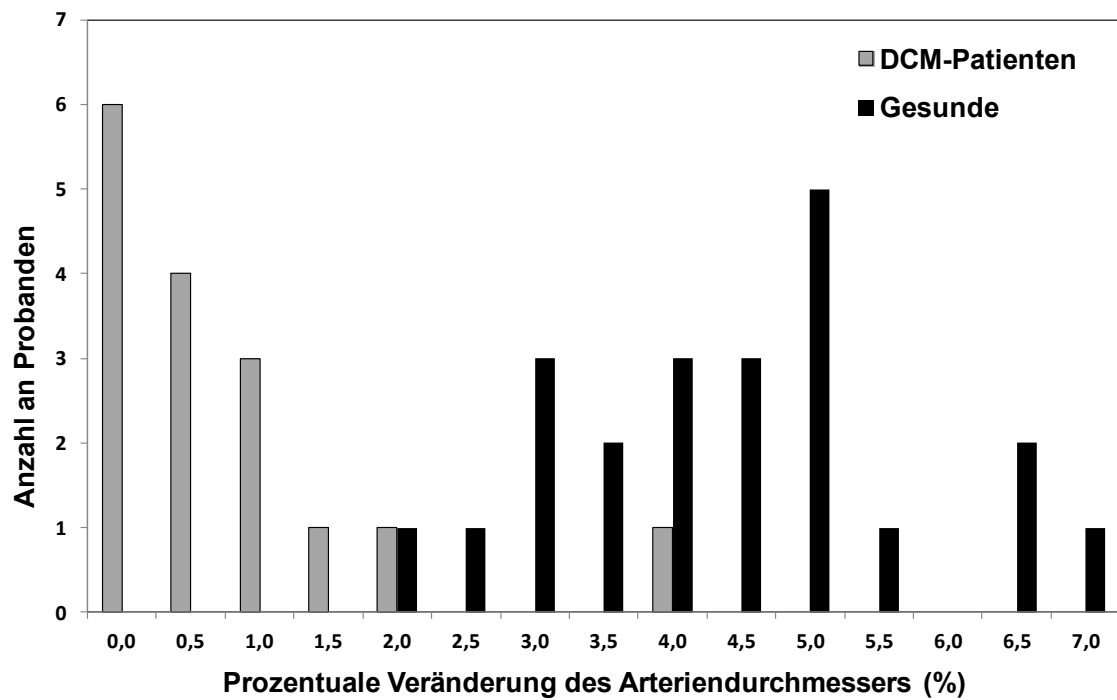
### V.9. Diagnostische Sicherheit der prozentualen Veränderung des Arterien­durchmessers

Zur Beurteilung der diagnostischen Sicherheit des Dynamic Vessel Analyzer in Bezug auf die dilatative Kardiomyopathie wurde eine ROC-Kurvenanalyse der prozentualen Veränderung des Arterien­durchmessers [Abbildung 7] erstellt. Bei einem Trennwert von 1,7 % Dilatation des Arterien­durchmessers lassen sich die Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie und die gesunden Probanden voneinander unterscheiden [Tabelle 11]. Das heißt, dass die DCM-Patienten eine Dilatation des Arterien­durchmessers  $\leq 1,7\%$  und die gesunden Probanden eine Dilatation des Arterien­durchmessers  $\geq 1,7\%$  haben [Abbildung 8]. Bei einem Trennwert von 1,7 % bestehen eine Sensitivität von 87,5 % und eine Spezifität von 100 % [Tabelle 11]. Die Ergebnisse der ROC-Kurven-Analyse zeigen, dass die Veränderung des arteriellen Durchmessers die gesunden Probanden sehr gut von den DCM-Patienten separiert (AUC (area under the curve) = 0,977).



**Abbildung 7:** ROC-Kurve der prozentualen Veränderung des Arterien­durchmessers





**Abbildung 8:** Häufigkeitsverteilung der prozentualen Veränderung des Arterien­durchmessers bei den DCM-Patienten und den gesunden Probanden

**Tabelle 11:** Trennwert, Sensitivität und Spezifität der prozentualen Veränderung des Arterien­durchmessers

Trennwert in %	Sensitivität	1-Spezifität
-1	0	0
0,05	0,25	0
0,15	0,313	0
0,25	0,375	0
0,4	0,438	0
0,6	0,5	0
0,75	0,625	0
0,95	0,688	0
1,15	0,75	0
1,3	0,813	0
<b>1,7</b>	<b>0,875</b>	<b>0</b>
2,05	0,875	0,045
2,2	0,938	0,045
2,7	0,938	0,091
3,15	0,938	0,136
3,25	0,938	0,227
3,35	0,938	0,273
3,6	0,938	0,318
3,85	1	0,318
4	1	0,364
4,15	1	0,409
4,4	1	0,455

## **VI. Diskussion**

Diese Arbeit ist die erste Studie, bei der die retinale Gefäßanalyse an Herzinsuffizienzpatienten mit dilatativer Kardiomyopathie durchgeführt wird, um den Grad der endothelialen Dysfunktion mit Hilfe der Messung der Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht zu ermitteln.

Die Hypothese kann somit bestätigt werden, dass die retinale Gefäßanalyse eine geeignete Methode zur Messung der endothelialen Dysfunktion bei Herzinsuffizienzpatienten mit dilatativer Kardiomyopathie ist.

Die statische und dynamische retinale Gefäßanalyse sind gut untersucht (Nagel und Vilser 2004, Blum et al. 1999, Pache et al. 2002, Polak et al. 2002, Dorner et al. 2003), vor allem die Antwort der retinalen Arterien auf diffuses Flickerlicht (Nagel und Vilser 2004, Polak et al. 2002, Pemp et al. 2009, Schiel et al. 2009). Gesunde Gefäße reagieren auf Flickerlicht mit einer Dilatation, was mit den Ergebnissen in der gesunden Kontrollgruppe dieser Studie übereinstimmt.

Stickstoffmonoxid spielt eine Schlüsselrolle in der endothelialen Funktion und Dysfunktion (Mendes-Ribeiro et al. 2001, Landmesser und Drexler 2005, Carville et al. 1998, Stewart 1998, Stühlinger 2007) und ist ein Vermittler der retinalen Vasodilatator-Antwort auf Flickerlicht (Michelson et al. 2002, Mayer et al. 1999).

In dieser Studie zeigte sich unter Flickerlicht eine signifikant geringere Vasodilatation der retinalen Arterien bei den Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie im Vergleich zu den gesunden Probanden.

Die reduzierte Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht ist ein Marker für die endotheliale Dysfunktion (Dorner et al. 2003, Delles et al. 2004). Die Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht ist gut untersucht bei der arteriellen Hypertonie (Delles et al. 2004, Nagel et al. 2004) und beim Diabetes mellitus (Mandecka et al. 2007, Nguyen et al. 2009, Mandecka et al. 2009).

Auch bei adipösen Personen zeigte sich eine reduzierte maximale Arteriendilatation als Antwort auf eine Flickerlichtstimulation sowie eine verlängerte Zeit bis zur maximalen Arteriendilatation im Vergleich zu den gesunden Probanden (Kotliar et al. 2011).

Die endotheliale Dysfunktion spielt eine wichtige Rolle in der Pathogenese der diabetischen Retinopathie (Stehouwer et al. 1997).

Mandecka et al. fanden bei Diabetikern eine abnorm reduzierte retinale Gefäßantwort auf Flickerlicht. Diese reduzierte Antwort verschlechterte sich mit zunehmendem Stadium der Retinopathie. Die Gefäßantwort war bereits reduziert vor dem klinischen Auftreten der Retinopathie. Die Autoren diskutierten die dynamische Gefäßanalyse als ein nichtinvasives Testverfahren zur frühen Entdeckung der endothelialen Dysfunktion bei diabetischen Gefäßerkrankungen vor dem klinischen Auftreten einer diabetischen Retinopathie (Mandecka et al. 2007).

Wie oben bereits erwähnt, wurden Patienten mit Diabetes mellitus bzw. einer arteriellen Hypertonie zuvor aus der aktuellen Studie ausgeschlossen. Diese Bedingungen konnten somit als Ursache für die Befunde in dieser Population ausgeschlossen werden. Darüber hinaus war die signifikant reduzierte Reaktion der retinalen Arterien auf Flickerlicht bei den Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie unabhängig vom Alter, Geschlecht, Blutdruck sowie vor allem unabhängig vom arteriellen Basis-Durchmesser des jeweils gemessenen Gefäßes. Die Basis-Durchmesser der Arterien waren zwar signifikant unterschiedlich zwischen den DCM-Patienten unter Therapie mit Renin-Angiotensin-Aldosteron-Antagonisten und der gesunden Kontrollgruppe.

Nach Adjustierung der Dilatation der kleinen Arterien an den arteriellen Basis-Durchmesser des jeweils gemessenen Gefäßes blieben die Unterschiede zwischen beiden Gruppen signifikant. Folglich ist davon auszugehen, dass die reduzierte Reaktion als Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht bei den Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie nicht Folge eines größeren Basis-Durchmessers der retinalen Arterien unter medikamentöser Therapie ist.

Nagel et al. untersuchten den Einfluss einer antihypertensiven Therapie auf den arteriellen Baseline-Durchmesser und auf die Flickerlichtantwort bei der dynamischen Gefäßanalyse bei Hypertonie-Patienten vor Behandlungsbeginn und 24 Monate unter einer antihypertensiven Therapie (Nagel et al. 2006b). Die Veränderungen des mittleren arteriellen Blutdruckes korrelierten signifikant mit den Veränderungen im arteriellen Basis-Durchmesser, während der venöse Basis-Durchmesser und die arterielle und venöse Flickerlichtantwort sich nicht signifikant veränderten und nicht mit den Blutdruckveränderungen korrelierten. Bei den Hypertonie-Patienten induzierten Langzeit-Blutdruckveränderungen von -10 mmHg des mittleren arteriellen Blutdrucks eine Veränderung des arteriellen Baseline-Durchmessers um +3,7  $\mu\text{m}$ .

Andererseits zeigte sich in einer anderen Studie bei normotensiven Typ1-Diabetikern mit einer milden Retinopathie nach einer 14-tägigen Behandlung mit Amlodipin und Lisinopril keine signifikante Veränderung des Durchmessers der retinalen Gefäße nach Flickerlichtstimulation und eine nicht signifikante Abnahme des arteriellen Blutdrucks (Mehlsen et al. 2011). Allerdings könnte dies auch an der sehr kurzen Zeit der Behandlung liegen.

Während die DCM-Patienten im Durchschnitt älter als die gesunde Kontrollgruppe waren, blieb der Unterschied der Veränderung zwischen den beiden Gruppen im Hinblick auf die Reaktion der retinalen Arterien auf Flickerlicht nach der Altersanpassung in der multivariaten linearen Regressionsanalyse signifikant.

Kneser et al. untersuchten den Alterseinfluss auf die regulierende retinale Gefäßantwort auf Flickerlicht bei der DVA-Messung bei 52 gesunden Probanden (Alter: 20-78 Jahre) (Kneser et al. 2009). Sie fanden keinen signifikanten Einfluss des Alters auf die isolierte Dilatation der retinalen Arterien unter Flickerlicht.

Um die Bedeutung der retinalen Gefäßanalyse als ein nichtinvasives Testverfahren zur Ermittlung der endothelialen Dysfunktion bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie zu unterstreichen, erfolgte eine Korrelation der Ergebnisse mit dem Serumbiomarker ADMA.

Zoccali et al. zeigten 2001 als Erste, dass erhöhte ADMA-Spiegel mit einem 3-fach erhöhten Risiko für zukünftige schwere kardiovaskuläre Ereignisse und die Mortalität bei Hämodialyse-Patienten assoziiert sind (Zoccali et al. 2001).

Mehrere klinische Studien und Tiermodelle berichteten über hohe Plasmaspiegel von ADMA im Falle der chronischen Herzinsuffizienz im Zusammenhang mit einer gestörten NO-Produktion und einer endothelialen Dysfunktion (Saitoh et al. 2003, Feng et al. 1998, Usui et al. 1998, Kielstein et al. 2003, Dückelmann et al. 2007). In vielen klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass ADMA unter anderem bei der chronischen Herzinsuffizienz und der koronaren Herzkrankheit erhöht ist und als Prognosefaktor zur Vorhersage des Risikos für kardiovaskuläre Ereignisse und für die Gesamtmortalität geeignet ist, da hohe ADMA-Spiegel auch mit einem erhöhten Sterblichkeitsrisiko assoziiert sind (Zoccali et al. 2001, Von Haehling et al. 2010, Valkonen et al. 2001).

Dückelmann et al. fanden heraus, dass erhöhte ADMA-Plasmakonzentrationen das kardiovaskuläre Vorhersagerisiko bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz erhöhen und dass die Quantifizierung von ADMA mit N-terminalem proBNP (NT-proBNP) die Risikostratifizierung in dieser Gruppe verbessert (Dückelmann et al. 2007).

Allerdings berichteten Dückelmann et al. auch darüber, dass ADMA bei Patienten mit akut dekompensierter Herzinsuffizienz und beeinträchtigter linksventrikulärer Funktion nicht die Patienten mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse detektierte (Dückelmann et al. 2008).

Seljeftot et al. untersuchten die Beziehung der ADMA- und L-Arginin-Spiegel sowie der Rate an gebildeten Sauerstoffradikalen (ROS) zur Schwere der Herzinsuffizienz sowie den Effekt eines gruppenbasierten Übungstrainings bei Herzinsuffizienzpatienten mit optimaler medikamentöser Einstellung. Sie fanden heraus, dass die ADMA-Spiegel in der NYHA-Klasse III signifikant höher und die L-Arginin-ADMA-Ratio signifikant geringer waren als in der NYHA-Klasse II. Es zeigte sich kein Effekt des Übungstrainings.

Die Autoren vermuteten einen starken Zusammenhang zwischen der L-Arginin-ADMA-Ratio, der ROS-Bildung in den Leukozyten und der Schwere der chronischen Herzinsuffizienz (Seljeflot et al. 2011).

Auch von Haehling et al. berichteten darüber, dass die ADMA-Spiegel bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz parallel zur NYHA-Klasse ansteigen (Von Haehling et al. 2010). Somit könnten die ADMA-Spiegel auch zur Vorhersage der Prognose der chronischen Herzinsuffizienz genutzt werden.

Die Serum-ADMA-Spiegel der DCM-Patienten erschienen in dieser Studie etwas höher zu sein als die Serum-ADMA-Spiegel der gesunden Probanden. Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant.

Auf der einen Seite könnte dies durch die geringe Fallzahl bedingt sein, auf der anderen Seite waren die Patienten überwiegend kompensiert und standen unter einer medikamentösen Therapie mit Renin-Angiotensin-Aldosteron-Antagonisten, sodass die ADMA-Spiegel im Falle einer akuten Dekompensation ohne Therapie möglicherweise höher wären, dies ist allerdings Gegenstand anderer Untersuchungen.

Mehrere Studien berichteten darüber, dass eine Therapie mit ACE-Hemmern und Angiotensin-II-Typ1-Rezeptor-Blockern die ADMA-Spiegel bei Patienten mit Hypertonie und Diabetes mellitus Typ II reduziert (Delles et al. 2002, Ito et al. 2002, Tomiyama et al. 2007). Die medikamentöse Therapie mit Renin-Angiotensin-Aldosteron-Antagonisten kann die endotheliale Dysfunktion verbessern, was auch mittels Scanning-Laser-Doppler-Flussmessung und gepulster Dopplersonographie der Zentralarterie der Netzhaut unter Flickerlichtstimulation bei Patienten mit arterieller Hypertonie festgestellt wurde (Delles et al. 2004). Vermutlich würden die endotheliale Dysfunktion bei den Patienten dieser Studie ohne eine Therapie mit Renin-Angiotensin-Aldosteron-Antagonisten ausgeprägter und die Serum-ADMA-Spiegel höher sein, was in weiteren Studien beleuchtet werden sollte.

In dieser Arbeit zeigte sich eine hochsignifikant inverse Korrelation zwischen der Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht und den Serum-ADMA-Spiegeln. Somit nimmt die Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht mit ansteigenden ADMA-Spiegeln ab. Die retinalen Gefäßanalysen der Netzhautarterien erschienen stärker in der Entdeckung und Quantifizierung der endothelialen Dysfunktion als die ADMA-Spiegel.

Perticone et al. berichteten über eine inverse Korrelation zwischen der Flow Mediated Dilation (FMD) der Arteria brachialis und den ADMA-Spiegeln bei Patienten mit einer essentiellen Hypertonie (Perticone et al. 2005).

Pemp et al. untersuchten, ob die Flickerlicht-induzierte Vasodilatation (dynamische Gefäßanalyse, DVA) und die Flow Mediated Dilation (FMD) bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ I und Hypertonie-Patienten mit bzw. ohne Hypercholesterinämie miteinander korrelieren. Es bestand zwar eine im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe signifikant reduzierte Flickerlichtantwort der retinalen Arterien und Venen und auch eine signifikant reduzierte FMD dieser Patienten, jedoch nur eine schwache Korrelation zwischen der Flickerlicht-induzierten Vasodilatation und der Flow Mediated Dilation (Pemp et al. 2009).

Somit können die Flow Mediated Dilation und die dynamische Gefäßanalyse nicht direkt miteinander verglichen werden, was auch durch die unterschiedlichen Gefäßbereiche und –kaliber zwischen FMD (Arteria brachialis am Unterarm) und DVA (retinale Arterien und Venen) bedingt sein könnte.

Aufgrund eines signifikanten Altersunterschiedes zwischen beiden Gruppen erfolgte eine Korrelationsanalyse zwischen Alter und relativer Veränderung des Arteriendurchmessers und zwischen Alter und ADMA in jeder Gruppe. Zwischen Alter und der relativen Veränderung des Arteriendurchmessers bestand keine signifikante Korrelation in beiden Gruppen, sodass das Alter somit keinen Einfluss auf die relative Veränderung des Arteriendurchmessers hatte.



In der Korrelationsanalyse zwischen Alter und ADMA bestand eine signifikant positive Korrelation nur in der Gruppe der gesunden Probanden, sodass mit zunehmendem Alter der gesunden Probanden die ADMA-Werte höher erschienen. In der Gruppe der DCM-Patienten korrelierten Alter und ADMA nicht miteinander. Obwohl die DCM-Patienten signifikant älter als die gesunden Probanden waren, hatte das Alter bei den DCM-Patienten somit keinen Einfluss auf die Höhe der ADMA-Werte.

Die ROC-Kurvenanalyse zeigt, dass die Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht (prozentuale Veränderung des Arteriendurchmessers) die gesunden Probanden sehr gut von den DCM-Patienten separieren kann mit einer hohen Sensitivität und einer hohen Spezifität.

## **VII. Schlussfolgerungen**

In dieser Studie zeigte sich unter Flickerlicht eine signifikant geringere Vasodilatation der retinalen Arterien bei den Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie im Vergleich zu den gesunden Probanden. Die ADMA-Spiegel waren bei den DCM-Patienten tendenziell etwas höher als bei der gesunden Kontrollgruppe, jedoch nicht signifikant unterschiedlich. Es ließ sich jedoch eine hochsignifikant inverse Korrelation zwischen der Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht und den Serum-ADMA-Spiegeln nachweisen. Die ROC-Kurvenanalyse zeigt, dass die Antwort der retinalen Arterien auf Flickerlicht (prozentuale Veränderung des Arterienradius) die gesunden Probanden mit einer hohen Sensitivität und einer hohen Spezifität von den DCM-Patienten separieren kann.

Schlussfolgernd weisen die Ergebnisse dieser Arbeit nach, dass die retinale Gefäßanalyse eine attraktive nichtinvasive Technik zur Messung der endothelialen Dysfunktion bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie ist.

Es bleibt zu ermitteln, ob diese Methode bei der Diagnosestellung, Prognose-Ermittlung und Therapieführung der Patienten mit unterschiedlichen Stadien der Herzinsuffizienz helfen kann.

### **Limitationen**

Die Befunde basieren auf einer kleinen Stichprobe, die die statistische Aussagekraft der aufgeführten Tests limitiert. Aber unter diesen Messbedingungen zeigten sich bereits trotz der geringen Fallzahl eine hoch signifikante Assoziation zwischen der mittels DVA gemessenen Veränderung des Arterienradius und den Serum-ADMA-Spiegeln, eine signifikant unterschiedliche Veränderung des Arterienradius in den beiden Gruppen sowie eine hohe Sensitivität und Spezifität in den Daten der ROC-Kurven-Analyse.

Die Untersuchungsmethode ist nicht für die gesamte Bevölkerung geeignet. Personen mit Glaukom, Epilepsie bzw. fortgeschrittenem Katarakt können an der retinalen Gefäßanalyse nicht teilnehmen. Der Dynamic Vessel Analyzer ist nicht überall zu Untersuchungszwecken verfügbar. Weiterhin gelingt es vielen Personen nicht, vor allem älteren Personen, ihr Auge auf einen Punkt zu fixieren bzw. das Auge zum Beispiel aufgrund eines herabhängenden Oberlides ausreichend weit zu öffnen. Während der dynamischen Gefäßanalyse ist eine starke Konzentration, den Kopf in einer Position zu halten und das Auge auf einen Punkt zu fixieren, erforderlich, was aufgrund mangelnder Konzentrationsfähigkeit wiederum zum Abbruch der Untersuchung führen kann.

Der Dynamic Vessel Analyzer berechnet nur relative Veränderungen des Arterien­durchmessers in Prozent. Für statistische Auswertungen sind jedoch auch Absolutwerte der Veränderungen des Arterien­durchmessers (Maximalwerte) erforderlich, zum Beispiel für die multivariate Regressionsanalyse und für Signifikanzbestimmungen zum Gruppenvergleich.

In einer prospektiven Studie sollte getestet werden, welche Einflussgrößen (zum Beispiel Medikamenteneinfluss, Einfluss der renalen Perfusion) bei der dynamischen Gefäßanalyse noch bestehen.

## VIII. Literatur- und Quellenverzeichnis

Abraham WT, Fisher WG, Smith AL, et al. 2002. For the MIRACLE study group: Cardiac resynchronization in chronic heart failure. *N Engl J Med*, 346:1845-53.

Bardy GH, Lee KL, Mark DB, et al. 2005. Amiodarone or an implantable cardioverter-defibrillator for congestive heart failure. *N Engl J Med*, 352:225-37.

Bänsch D, Antz M, Boczor S, et al. 2002. Primary prevention of sudden cardiac death in idiopathic dilated cardiomyopathy: The Cardiomyopathy Trial (CAT). *Circulation*, 105:1453-8.

Blum M, Bachmann K, Wintzer D, Riemer T, Vilser W, Strobel J. 1999. Noninvasive measurement of the Bayliss effect in retinal autoregulation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 237:296-300.

Boerrigter G, Lapp H, Burnett JC. 2009. Modulation of cGMP in heart failure: a new therapeutic paradigm. *Handb Exp Pharmacol*, 485-506.

Bouras G, Deftereos S, Tousoulis D, Giannopoulos G, Chatzis G, Tsounis D, Cleman MW, Stefanadis C. 2013. Asymmetric Dimethylarginine (ADMA): A Promising Biomarker for Cardiovascular Disease? *Curr Top Med Chem*, 13:180-200.

Böger RH, Bode-Böger SM, Tsao PS, Lin PS, Chan JR, Cooke JP. 2000. An endogenous inhibitor of nitric oxide synthase regulates endothelial adhesiveness for monocytes. *J Am Coll Cardiol*, 36:2287-2295.

Böger RH. 2003. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) modulates endothelial function – therapeutic implications. *Vasc Med*, 8:149-51.

Carville C, Adnot S, Sediame S, Benacerraf S, Castaigne A, Calvo F, de Cremou P, Dubois-Randé JL. 1998. Relation between impairment in nitric oxide pathway and clinical status in patients with congestive heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol*, 32:562-70.

Cazeau S, Leclercq C, Lavergne T, et al. 2001. Multisite stimulation in cardiomyopathies (MUSTIC) study investigators. Effects of multisite biventricular pacing in patients with heart failure and intraventricular conduction delay. *N Engl J Med*, 344:873-80.

Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, Lloyd JK, Deanfield JE. 1992. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*, 340:1111-5.

Cines DB, Pollak ES, Buck CA, Loscalzo J, Zimmerman GA, McEver RP, Pober JS, Wick TM, Konkle BA, Schwartz BS, Barnathan ES, McCrae KR, Hug BA, Schmidt AM, Stern DM. 1998. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood*, 91:3527-61.

Cosentino F, Patton S, d'Uscio LV, Werner ER, Werner-Felmayer G, Moreau P, Malinski T, Lüscher TF. 1998. Tetrahydrobiopterin alters superoxide and nitric oxide release in prehypertensive rats. *J Clin Invest*, 101:1530-7.

Davis RC, Hobbs FD, Lip GY. 2000. ABC of heart failure. History and epidemiology. *Brit Med J*, 320:39-42.

Dec GW, Fuster V. 1994. Idiopathic dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med*, 331:1564-1575.

de Meirelles LR, Resende Ade C, Matsuura C, Salgado A, Pereira NR, Cascarelli PG, Mendes-Ribeiro AC, Brunini TM. 2011. Platelet activation, oxidative stress and overexpression of inducible nitric oxide synthase in moderate heart failure. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 38:705-10.

Delles C, Michelson G, Harazny J, Oehmer S, Hilgers KF, Schmieder RE. 2004. Impaired endothelial function of the retinal vasculature in hypertensive patients. *Stroke*, 35:1289-93.

Delles C, Schneider MP, John S, Gekle M, Schmieder RE. 2002. Angiotensin converting enzyme inhibition and angiotensin II AT1-receptor blockade reduce the levels of asymmetrical N(G), N(G)-dimethylarginine in human essential hypertension. *Am J Hypertens*, 15:590-3.

Dorner GT, Garhofer G, Kiss B, Polska E, Polak K, Riva CE, Schmetterer L. 2003. Nitric oxide regulates retinal vascular tone in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 285:H631-6.

Drexler H. 1999. Nitric oxide synthases in the failing human heart: a double-edged sword? *Circulation*, 99:2972-5.

Dückelmann C, Mittermayer F, Haider DG, Altenberger J, Eichinger J, Wolzt M. 2007. Asymmetric dimethylarginine enhances cardiovascular risk prediction in patients with chronic heart failure. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 27:2037-42.

Dückelmann C, Mittermayer F, Haider DG, Altenberger J, Wolzt M. 2008. Plasma asymmetric dimethylarginine and cardiovascular events in patients with acute decompensated heart failure. *Transl Res*, 152:24-30.

Feng Q, Lu X, Fortin AJ, Pettersson A, Hedner T, Kline RL, Arnold JM. 1998. Elevation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in experimental congestive heart failure. *Cardiovasc Res*, 37:667-75.

Francis GS, Pierpont GL. 1988. Pathophysiology of congestive heart failure secondary to congestive and ischemic cardiomyopathy. *Cardiovasc Clin*, 19:57-74.

Frick M, Neunteufl T, Schwarzacher SP, Wascher T, Weidinger F. 2002. Flow-mediated vasodilation (FMD) of the brachial artery: methodology and clinical relevance. *Kardiol*, 9:439-44.

Furchgott RF, Zawadski JV. 1980. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 288:373-376.

Grünig E, Brown B, Franz W, Zehelein J, Rottbauer W, Frey N, Scheffold T, Katus HA. 1995. [Clinical aspects and follow-up in dilated cardiomyopathy]. *Z Kardiol*, 84:39-40.

Gugleta K, Zawinka C, Rickenbacher I, Kochkorov A, Katamay R, Flammer J, Orgul S. 2006. Analysis of retinal vasodilation after flicker light stimulation in relation to vasospastic propensity. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 47:4034-41.

Hoppe UC, Erdmann E. 2001. Guidelines for the treatment of chronic heart failure. Issued by the Executive Committee of the German Society of Cardiology – Heart and Circulation Research, compiled on behalf of the Commission of Clinical Cardiology in cooperation with Pharmaceutical Commission of the German Physicians' Association. *Z Kardiol*, 90:218-37.

Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, Jessup M, Konstam MA, Mancini DM, Michl K, Oates JA, Rahko PS, Silver MA, Stevenson LW, Yancy CW. 2009. 2009 focused update incorporated into the ACC/AHA 2005 Guidelines for the Diagnosis and Management of Heart Failure in Adults: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: developed in collaboration with the International Society for Heart and Lung Transplantation. *Circulation*, 119:e391-479.

Hunt HA, Baker DW, Chin MH, Cinquegrani MP, Feldmanmd AM, Francis GS, Ganiats TG, Goldstein S, Gregoratos G, Jessup ML, Noble RJ, Packer M, Silver MA, Stevenson LW, Gibbons RJ, Antman EM, Alpert JS, Faxon DP, Fuster V, Jacobs AK, Hiratzka LF, Russel RO, Smith SCJ. 2001. ACC/AHA Guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult: Executive summary A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1995 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure): Developed in Collaboration With the International Society for Heart and Lung Transplantation; Endorsed by the Heart Failure Society of America. *Circulation*, 104:2996-3007.

Ito A, Egashira K, Narishige T, Muramatsu K, Takeshita A. 2002. Angiotensin-converting enzyme activity is involved in the mechanism of increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circ J*, 66:811-5.



Kadish A, Dyer A, Daubert JP, et al. 2004. Prophylactic defibrillator implantation in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med*, 351:2151-8.

Kapelko VI. 2001. Extracellular matrix alterations in cardiomyopathy: The possible crucial role in the dilative form. *Exp Clin Cardiol*, 6:41-9.

Kielstein JT, Bode-Böger SM, Klein G, Graf S, Haller H, Fliser D. 2003. Endogenous nitric oxide synthase inhibitors and renal perfusion in patients with heart failure. *Eur J Clin Invest*, 33:370-5.

Kneser M, Kohlmann T, Pokorny J, Tost F. 2009. Age related decline of microvascular regulation measured in healthy individuals by retinal dynamic vessel analysis. *Med Sci Monit*, 15:CR436-41.

Kotliar KE, Lanzl IM, Schmidt-Trucksäss A, Sitnikova D, Ali M, Blume K, Halle M, Hanssen H. 2011. Dynamic retinal vessel response to flicker in obesity: A methodological approach. *Microvasc Res*, 81:123-8.

Landmesser U, Drexler H. 2005. The clinical significance of endothelial dysfunction. *Curr Opin Cardiol*, 20:547-51.

Mandecka A, Dawczynski J, Blum M, Müller N, Kloos C, Wolf G, Vilser W, Hoyer H, Müller UA. 2007. Influence of flickering light on the retinal vessels in diabetic patients. *Diabetes Care*, 30:3048-52.

Mandecka A, Dawczynski J, Vilser W, Blum M, Müller N, Kloos C, Wolf G, Müller UA. 2009. Abnormal retinal autoregulation is detected by provoked stimulation with flicker light in well-controlled patients with type 1 diabetes without retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract*, 86:51-5.

Mayer BX, Mensik C, Krishnaswami S, Derendorf H, Eichler HG, Schmetterer L, Wolzt M. 1999. Pharmacokinetic-pharmacodynamic profile of systemic nitric oxide-synthase inhibition with L-NMMA in humans. *Br J Clin Pharmacol*, 47:539-44.

McMurray JJ, Stewart S. 2000. Epidemiology, aetiology, and prognosis of heart failure. *Heart*, 83:596-602.

Mehlsen J, Jeppesen P, Erlandsen M, Poulsen PL, Bek T. 2011. Lack of effect of short-term treatment with Amlodipine and Lisinopril on retinal autoregulation in normotensive patients with type 1 diabetes and mild diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol*, 89:764-8.

Mendes-Ribeiro AC, Brunini TM, Ellory JC, Mann GE. 2001. Abnormalities in L-arginine transport and nitric oxide biosynthesis in chronic renal and heart failure. *Cardiovasc Res*, 49:697-712.

Mendes-Ribeiro AC, Mann GE, de Meirelles LR, Moss MB, Matsuura C, Brunini TM. 2009. The role of exercise on L-arginine nitric oxide pathway in chronic heart failure. *Open Biochem J*, 3:55-65.

Michelson G, Patzelt A, Harazny J. 2002. Flickering light increases retinal blood flow. *Retina*, 22:336-43.

Moncada S. 2006. Adventures in vascular biology: a tale of two mediators. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 361:735-59.

Moss AJ, Zareba W, Hall WJ, et al. 2002. The Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial II Investigators: prophylactic implantation of a defibrillator in patients with myocardial infarction and reduced ejection fraction. *N Engl J Med*, 346:877-83.

Mosterd A, Hoes AW, de Bruyne MC, Deckers JW, Linker DT, Hofman A, Grobbee DE. 1999. Prevalence of heart failure and left ventricular dysfunction in the general population; The Rotterdam Study. *Eur Heart J*, 20:447-55.

Nagel E, Vilser W. 2004. Flicker observation light induces diameter response in retinal arterioles: a clinical methodological study. *Br J Ophthalmol*, 88:54-6.

Nagel E, Vilser W, Fink A, Riemer T. 2006a. Variance of retinal vessel diameter response to flicker light. A methodical clinical study. *Ophthalmologe*, 103:114-9.

Nagel E, Vilser W, Fink A, Riemer T, Lanzl I. 2006b. Blood pressure effects on retinal vessel diameter and flicker response: a 1.5-year follow-up. *Eur J Ophthalmol*, 16:560-5.

Nagel E, Vilser W, Lanzl I. 2004. Age, blood pressure, and vessel diameter as factors influencing the arterial retinal flicker response. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 45:1486-92.

Nagel E, Vilser W, Lanzl I. 2005. Comparison of diameter response of retinal arteries and veins to flickering light. A clinical study with healthy people *Ophthalmologe*, 102:787-93.

Neumann T, Biermann J, Erbel R, Neumann A, Wasem J, Ertl G, Dietz R. 2009. Heart failure: the commonest reason for hospital admission in Germany: medical and economic perspectives. *Dtsch Arztebl Int*, 106:269-75.

Nguyen TT, Kawasaki R, Wang JJ, Kreis AJ, Shaw J, Vilser W, Wong TY. 2009. Flicker light-induced retinal vasodilation in diabetes and diabetic retinopathy. *Diabetes Care*, 32:2075-80.

Pache M, Nagel E, Flammer J. 2002. Reproducibility of measurements with the retinal vessel analyzer under optimal conditions. *Klin Monbl Augenheilkd*, 219:523-7.

Panagopoulou V, Deftereos S, Kossyvakis C, Raisakis K, Giannopoulos G, Bouras G, Pyrgakis V, Cleman MW. 2013. NTproBNP: An Important Biomarker in Cardiac Diseases. *Curr Top Med Chem*, 13:82-94.

Pemp B, Weigert G, Karl K, Petzl U, Wolzt M, Schmetterer L, Garhofer G. 2009. Correlation of flicker-induced and flow-mediated vasodilatation in patients with endothelial dysfunction and healthy volunteers. *Diabetes Care*, 32:1536-41.

Pernow J, Jung C. 2013. Arginase as a potential target in the treatment of cardiovascular disease: reversal of arginine steal? *Cardiovasc Res*, 98:334-43.

Perticone F, Sciacqua A, Maio R, et al. 2005. Asymmetric dimethylarginine, L-arginine, and endothelial dysfunction in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol*, 46:518-23.

Polak K, Dorner G, Kiss B, Polska E, Findl O, Rainer G, Eichler HG, Schmetterer L. 2000. Evaluation of the Zeiss retinal vessel analyser. *Br J Ophthalmol*, 84:1285-90.

Polak K, Schmetterer L, Riva CE. 2002. Influence of flicker frequency on flicker-induced changes of retinal vessel diameter. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 43:2721-6.

Popolo A, Autore G, Pinto A, Marzocco S. 2013. Oxidative stress in patients with cardiovascular disease and chronic renal failure. *Free Radic Res*, 47:346-56.

Quitter F, Figulla HR, Ferrari M, Pernow J, Jung C. 2013. Increased arginase levels in heart failure represent a therapeutic target to rescue microvascular perfusion. *Clin Hemorheol Microcirc*, 54:75-85.

Ramadoss J, Pastore MB, Magness RR. 2013. Endothelial Caveolar Subcellular Domain Regulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase. Clin Exp Pharmacol Physiol, doi: 10.1111/1440-1681.12136. [Epub ahead of print].

Savic-Radojevic A, Radovanovic S, Pekmezovic T, Pljesa-Ercegovic M, Simic D, Djukic T, Matic M, Simic T. 2013. The role of serum VCAM-1 and TNF- $\alpha$  as predictors of mortality and morbidity in patients with chronic heart failure. J Clin Lab Anal, 27:105-12.

Saitoh M, Osanai T, Kamada T, Matsunaga T, Ishizaka H, Hanada H, Okumura K. 2003. High plasma level of asymmetric dimethylarginine in patients with acutely exacerbated congestive heart failure: role in reduction of plasma nitric oxide level. Heart Vessels, 18:177-82.

Sakurada M, Shichiri M, Imamura M, Azuma H, Hirata Y. 2008. Nitric oxide upregulates dimethylarginine dimethylaminohydrolase-2 via cyclic GMP induction in endothelial cells. Hypertension, 52:903-9.

Schiel R, Vilser W, Kovar F, Kramer G, Braun A, Stein G. 2009. Retinal vessel response to flicker light in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus and overweight or obesity. Diabetes Res Clin Pract, 83:358-64.

Seifertl BU, Vilser W. 2002. Retinal Vessel Analyzer (RVA)-design and function. Biomed Tech (Berl), 47 Suppl 1 Pt 2:678-81.

Seljeftot I, Nilsson BB, Westheim AS, Bratseth V, Arnesen H. 2011. The L-arginine-asymmetric dimethylarginine ratio is strongly related to the severity of chronic heart failure. No effect of exercise training. J Card Fail, 17:135-42.

Simonsen U, Rodriguez-Rodriguez R, Dalsgaard T, Buus NH, Stankevicius E. 2009. Novel approaches to improving endothelium-dependent nitric oxide-mediated vasodilatation. Pharmacol Rep, 61:105-15.

Stehouwer CD, Lambert J, Donker AJ, van Hinsbergh VW. 1997. Endothelial dysfunction and pathogenesis of diabetic angiopathy. *Cardiovasc Res*, 34:55-68.

Stewart DJ. 1998. Nitric oxide puzzles and paradoxes in heart failure: how to fit the pieces together? *Clin Sci (Lond)*, 94:3-4.

Strickberger SA, Hummel JD, Bartlett TG. 2003. Amiodarone versus implantable cardioverter-defibrillator: randomized trial in patients with nonischemic dilated cardiomyopathy and asymptomatic nonsustained ventricular tachycardia – AMIOVIRT. *J Am Coll Cardiol*, 41:1707-12.

Stühlinger M. 2007. Asymmetric dimethyl arginine (ADMA): a novel cardiovascular risk factor? *Wien Med Wochenschr*, 157:57-60.

Tang WH, Shrestha K, Tong W, Wang Z, Troughton RW, Borowski AG, Klein AL, Hazen SL. 2013. Nitric oxide bioavailability and adiponectin production in chronic systolic heart failure: relation to severity of cardiac dysfunction. *Transl Res*, pii: S1931-5244(13)00047-9. doi: 10.1016/j.trsl.2013.02.005. [Epub ahead of print].

Teerlink T, Neele SJ, DeJong S, Netelenbos JC, Stehouwer CD. 2003. Estrogen replacement therapy lowers plasma levels of asymmetric dimethylarginine in healthy postmenopausal women. *Clin Sci*, 105:67-71.

Tomiyama H, Yamada J, Koji Y, Shiina K, Yoshida M, Yamashina A. 2007. Effect of telmisartan on forearm postischemic hyperemia and serum asymmetric dimethylarginine levels. *Am J Hypertens*, 20:1305-11.

Usui M, Matsuoka H, Miyazaki H, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T. 1998. Increased endogenous nitric oxide synthase inhibitor in patients with congestive heart failure. *Life Sci*, 62:2425-30.

Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT et al. 2001. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet*, 358:2127-8.

Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. 1992a. Endogenous dimethyl-arginine as an inhibitor of nitric oxide synthesis. *J Cardiovasc Pharmacol*, 20 (Suppl. 12):S60-S62.

Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. 1992b. Accumulation of an endogenous inhibitor of NO synthesis in chronic renal failure. *Lancet*, 339:572-575.

Vergnani L, Hatrik S, Ricci F, Passaro A, Manzoli N, Zhuliai G, Brovkovich V, Fellin R, Malinski T. 2000. Effect of native and oxidized low-density lipoprotein on endothelial nitric oxide and superoxide production – Key role of L-Arginine availability. *Circulation*, 101:1261-1266.

Vilser W, Nagel E, Lanzl I. 2002. Retinal Vessel Analysis-new possibilities. *Biomed Tech (Berl)*, 47 Suppl 1 Pt 2:682-5.

Von Haehling S, Bode-Böger SM, Martens-Lobenhoffer J, Rauchhaus M, Schefold JC, Genth-Zotz S, Karhausen T, Ciccoira M, Anker SD, Doehner W. 2010. Elevated levels of asymmetric dimethylarginine in chronic heart failure: a pathophysiologic link between oxygen radical load and impaired vasodilator capacity and the therapeutic effect of allopurinol. *Clin Pharmacol Ther*, 88:506-12.

Wong TY, Klein R, Sharrett AR, Duncan BB, Couper DJ, Tielsch JM, Klein BE, Hubbard LD. 2002. Retinal arteriolar narrowing and risk of coronary heart disease in men and women. The Atherosclerosis Risk in Communities Study. JAMA, 287:1153-1159.

Yang Z, Ming XF. 2013. Arginase: the emerging therapeutic target for vascular oxidative stress and inflammation. Front Immunol, 4:149.

Zaitsev S, Kowalska MA, Neyman M, Carnemolla R, Tliba S, Ding BS, Stonestrom A, Spitzer D, Atkinson JP, Poncz M, Cines DB, Esmon CT, Muzykantov VR. 2012. Targeting recombinant thrombomodulin fusion protein to red blood cells provides multifaceted thromboprophylaxis. Blood. 119:4779-85.

Zoccali C, Bode-Böger S, Mallamaci F, et al. 2001. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. Lancet, 358:2113-7.

Zugck C, Müller A, Helms TM, Wildau HJ, Becks T, Hacker J, Haag S, Goldhagen K, Schwab JO. 2010. Health economic impact of heart failure: An analysis of the nationwide German database. Dtsch Med Wochenschr, 135:633-8.



## IX. Anhang

### IX.1. Lebenslauf

<b>Name:</b>	Helen Schmicker-Helf, geb. Schmicker
<b>Geburtsdatum:</b>	12. November 1980
<b>Geburtsort:</b>	Magdeburg
<b>Familienstand:</b>	Verheiratet, 1 Kind
<b>Schulausbildung:</b>	1987-1991: Grundschule „Oskar Linke“, Magdeburg  1991-1999: Gymnasium „Otto-von-Guericke“, Magdeburg  Schulabschluss: Abitur im Juli 1999
<b>Universitätsausbildung:</b>	WS 1999/2000-SS 2006  Humanmedizin an der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg  Prüfungen: 09.2002: Ärztliche Vorprüfung  08.2003: 1. Staatsexamen  09.2005: 2. Staatsexamen  11.2006: 3. Staatsexamen
<b>Berufsausübung:</b>	seit Februar 2007 Assistenzärztin für Innere Medizin in der 3. Medizinischen Klinik des HELIOS-Klinikum Erfurt  (Stationen: Kardiologie, Internistische Intensivstation, Internistische Notaufnahme,

	kardiologisches Aufnahmezimmer, Hämatologie und Onkologie, Pulmologie)
<b>Publikationen</b>	Koautor der Posterpräsentation Schwefer et al. BMC Pharmacology 2011, <b>11</b> (Suppl1): P66 (Dynamic Vessel Analyzer (DVA) – a new method to detect endothelial dysfunction in chronic heart failure: Correlation between DVA and Asymmetric Dimethyl Arginine (ADMA))

## **IX.2. Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Harald Lapp, Chefarzt der 3. Medizinischen Klinik für Innere Medizin/Abteilung Kardiologie und Internistische Intensivmedizin des HELIOS-Klinikum Erfurt, für die mir gebotene Möglichkeit der Verfassung dieser Arbeit in seiner Klinik und seine wertvolle konstruktive Unterstützung und die kritischen Korrekturen bei der Anfertigung dieser Dissertation.

Bei Herrn Privatdozent Dr. med. Christian Jung, Oberarzt der Klinik für Innere Medizin I und Mitarbeiter der Forschungsgruppe „Experimentelle Herzinsuffizienz“ am Universitätsklinikum Jena, möchte ich mich ganz herzlich für die wissenschaftliche Begleitung und die Übernahme der Begutachtung meiner Arbeit bedanken.

Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Markus Schwefer für die partnerschaftliche Zusammenarbeit und die wertvollen und konzeptionellen Anregungen und Hinweise bei der Durchführung der Forschungsarbeiten bedanken.

Bei Herrn Dr. rer. nat. Thomas Lehmann, Institut für Medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation am Universitätsklinikum Jena, bedanke ich mich recht herzlich für seine Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten.

Bei Herrn Professor Dr. med. Marcus Blum, Chefarzt der Augenheilkunde des HELIOS-Klinikum Erfurt, möchte ich mich bedanken für die praktische Ermöglichung der Untersuchung der Probanden am Dynamic Vessel Analyzer sowie am Tonometer zur Augeninnendruckmessung.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Dr. Ing. habil. Walthard Vilser, Geschäftsführer der Firma Imedos Systeme UG Jena, für die Nutzung des Dynamic Vessel Analyzer und für die konstruktiven Korrekturen zur statischen und dynamischen Gefäßanalyse.

### **IX.3. Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr Professor Dr. med. Harald Lapp, Herr Privatdozent Dr. med. Christian Jung, Herr Dr. med. Markus Schwefer, Herr Dr. rer. nat. Thomas Lehmann, Herr Professor Dr. med. Marcus Blum und Herr Dr. Ing. habil. Walthard Vilser,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, 24.07.2013

#### **IX.4. Musterbogen Patienteninformation und Einverständniserklärung**

HELIOS Klinikum Erfurt

3. Medizinische Klinik/ Kardiologie

Nordhäuser Straße 74

99089 Erfurt

Patientenaufkleber

#### **Patienteninformation und Einverständniserklärung**

##### **Untersuchung der Vasoreagibilität der zentralen Mikrozirkulation bei der chronischen Herzinsuffizienz**

Sehr geehrter Herr/ Frau.....!

Sie haben die Möglichkeit an einer Studie teilzunehmen, in der die Gefäße am Augenhintergrund untersucht werden.

Ziel der Studie ist es, charakteristische Merkmale zur Früherkennung und Prognoseeinschätzung einer Herzschwäche zu finden, um die Herzschwäche möglichst vor Auftritt klinischer Symptome in frühen Krankheitsstadien erkennen und besser behandeln zu können. Die Mikrozirkulation am Augenhintergrund zeigt hier möglicherweise frühe Veränderungen.

Im Rahmen dieser Studie bekommen Sie gratis eine augenärztliche Routineuntersuchung.

Sie nehmen freiwillig an der Studie teil und haben die Möglichkeit, jeder Zeit ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile für Ihre weitere Behandlung zurückzutreten.

Am Untersuchungstag dürfen Sie eine Stunde vor der Augenuntersuchung keinen Kaffee, schwarzen Tee bzw. andere koffeinhaltige Getränke trinken. Auch das Rauchen von Zigaretten bzw. Zigarren sollte eine Stunde vor der Untersuchung vermieden werden, da dadurch der Gefäßdurchmesser und somit die Untersuchungsergebnisse beeinflusst werden. Eine Stunde vor Untersuchungsbeginn sollten Sie ebenfalls keine Nahrung mehr zu sich nehmen. Ebenso sollten größere physische Belastungen am Untersuchungstag vor der Untersuchung vermieden werden.

Zunächst findet bei Ihnen ein ärztliches Gespräch und eine allgemeine körperliche Untersuchung statt. Die Ein- und Ausschlusskriterien werden genau geprüft. Dann folgt vor der eigentlichen Gefäßuntersuchung mittels des Dynamic Vessel Analyzer (DVA) eine augenärztliche Routineuntersuchung.

Die Untersuchung des Augenhintergrundes sowie die eigentliche Gefäßuntersuchung mittels des Dynamic Vessel Analyzer (DVA) sind für Sie ohne Risiko, geringe Nebenwirkungen können lediglich im Rahmen der einmaligen Anwendung von Augentropfen auftreten, da ein Auge zu Untersuchungsbeginn mit Hilfe von Tropicamid (Mydrum®) weitgetropft wird, damit die Pupille sich nicht mehr auf einen Lichtreiz hin verengt und somit der Augenhintergrund besser untersucht werden kann. Die Augentropfen sind für diese Indikation zugelassen.

Unter der Tropicamidgabe kann es zu Augenbrennen, Akkommodationsstörungen (Störung der Anpassung der Augenlinse zum Nah-/Fernsehen), Steigerung des Augeninnendrucks, Auslösung eines Glaukomanfalls, gelegentlich zu einer Kontaktdermatitis (allergisch bedingte Hautentzündung) und im Einzelfall zu einer Kreuzallergie mit Scopolamin kommen. Systemische Nebenwirkungen nach der Anwendung am Auge, wie Mundtrockenheit, Rötung und Trockenheit der Haut, erhöhte Temperatur, Harnsperrung und kardiovaskuläre Effekte (Herz und Blutgefäße betreffend), wie z. B. Bradykardie (verlangsamte Herzschlagfolge) sind nicht auszuschließen. In Einzelfällen ist das Auftreten von Benommenheit möglich. Diese Nebenwirkungen sind insgesamt selten.

Die Untersuchung findet während Ihres stationären Aufenthaltes im Krankenhaus statt. Trotzdem möchten wir Sie darauf hinweisen, dass Sie nach Beendigung der Untersuchung nicht Autofahren dürfen und auch die Fähigkeit zur aktiven Teilnahme am Straßenverkehr und zur Bedienung von Maschinen beeinträchtigt ist, da Ihr weitgetropftes Auge verschwommen sieht, sich für eine Zeit von sechs bis zwölf Stunden nicht verengen und Gegenstände nicht fokussieren kann und somit verstärkt blendempfindlich ist.

Bei einem kleinen Teil der Patienten erfolgt zusätzlich eine Untersuchung zur Funktion der Blutgefäße am Arm (FMD). Dazu wird durch Aufpumpen einer Blutdruckmanschette am Arm eine Kompression erzeugt. Mit Hilfe eines Ultraschallkopfes wird die Änderung des Gefäßdurchmessers einer Arterie vor, während und nach Ablassen der Blutdruckmanschette ermittelt. Nach Ablassen der Manschette kommt es zu einer überschießenden Durchblutung des Armes durch Gefäßerweiterung. Das Ausmaß der Gefäßerweiterung ist abhängig von der Gefäßfunktion und kann bei bestimmten Erkrankungen verändert sein. Diese Untersuchung ist für Sie ohne ein relevantes Risiko.

Über die Teilnahme an der Studie wird Ihr Hausarzt gesondert informiert.

Ich erkläre mich mit der Teilnahme an der oben bezeichneten Studie einverstanden. Ebenso erkläre ich, dass ich mit der im Rahmen der klinischen Prüfung erfolgenden Aufzeichnung von Krankheitsdaten/Studiendaten und ihrer anonymisierten Verwendung im Rahmen dieser Studie einverstanden bin.

Erfurt,

Unterschrift des Patienten  
Arztes

Unterschrift des aufklärenden

## Einwilligungserklärung

HELIOS Klinikum Erfurt

3. Medizinische Klinik/ Kardiologie

Nordhäuser Straße 74

99089 Erfurt

Patientenaufkleber

### **Untersuchung der Vasoreagibilität der zentralen Mikrozirkulation bei der chronischen Herzinsuffizienz**

Ich erkläre, dass ich mit der im Rahmen der klinischen Prüfung erfolgenden Aufzeichnung von Krankheitsdaten/Studiendaten und ihrer anonymisierten Verwendung im Rahmen dieser Studie einverstanden bin.

Ich nehme freiwillig an der Studie teil und habe die Möglichkeit, jeder Zeit ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile für Ihre weitere Behandlung zurückzutreten.

Die von den Probanden erhobenen Daten unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht und werden anonymisiert weitergegeben.

Unterschrift des Probanden/Patienten

Erfurt,

Erfurt,

Unterschrift des Arztes

Erfurt,



## **IX.5. DVA-Anamnesebogen**

### **DVA – Anamnesebogen**

Name:

Adresse:

Telefonnummer:

Geburtsdatum:

Größe:

Gewicht:

BMI:

Medikamente:

Vorerkrankungen:

Kardiovaskuläre Risikofaktoren:

- ☐ Arterielle Hypertonie
- ☐ Hyperlipidämie
- ☐ Diabetes mellitus: Typ:

Erstmanifestation:

Insulinpflichtig seit:

Diabetische Retinopathie:

Fundus hypertonicus:

GAD-II- und TPO/TRAK-Antikörper:

L-Thyroxineinnahme:

- ☐ Nikotinabusus: Zigaretten pro Tag:

Dauer:

Ex-Nikotinabusus bis:

- ☐ Adipositas
- ☐ positive Familienanamnese:

## IX.6. Votum der Ethik-Kommission Jena



**Universitätsklinikum  
Jena**

### Ethik-Kommission

Vorsitzende: Prof. Dr. med. Dagmar Barz  
Geschäftsstelle: Dr. phil. Ulrike Skorsetz

Bachstraße 18  
07743 Jena

Telefon 03641 93 37 70  
Telefax 03641 93 37 71

E-Mail: [ethikkommission@med.uni-jena.de](mailto:ethikkommission@med.uni-jena.de)

Jena, 7. Juli 2008

Universitätsklinikum Jena · Ethik-Kommission · Postfach · 07740 Jena

HELIOS Klinikum Erfurt GmbH  
OA Dr. med. M. Schwefer  
3. Medizinische Klinik  
Nordhäuser Str. 74

99089 Erfurt

### Bearbeitungs-Nr. 2314-06/08

Sehr geehrter Herr Kollege,

in ihrer Sitzung am 03.07.2008 hat die Ethik-Kommission der Friedrich-Schiller Universität  
Ihren Antrag


*Untersuchung zur Vasoreagibilität der zentralen Mikrozirkulation bei der chronischen  
Herzinsuffizienz*

beraten.

Es bestehen keine ethischen Bedenken gegen Ihr Vorhaben.

Wir bitten Sie, den 1. Satz in der Patienteninformation zu streichen oder zu überarbeiten.

Mit kollegialem Gruß

  
Prof. Dr. med. D. Barz  
Vorsitzende der Ethik-Kommission

Bachstraße 18 · 07743 Jena · Telefon 03641 93 00

Internet: [www.uniklinikum-jena.de](http://www.uniklinikum-jena.de)

Gerichtsstand Jena

Steuernummer 161 / 144 / 02978 · USt-IdNr. DE 150545777

Bankverbindung:

Sparkasse Jena · BLZ 830 530 30 · Konto 221

Universitätsklinikum Jena · Körperschaft des öffentlichen Rechts  
als Teilkörperschaft der Friedrich-Schiller-Universität Jena  
Kaufmännischer Vorstand  
und Sprecher des Klinikumsvorstandes: Rudolf Kruse  
Verwaltungsratsvorsitzender: Prof. Dr. Walter Bauer-Wabenegg  
Medizinischer Vorstand: Prof. Dr. Klaus Höffken  
Wissenschaftlicher Vorstand: Prof. Dr. Klaus Benndorf